

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Universität München
Lehrstuhl Prof. Dr. M. Rüsse
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. K. Walser

Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration von
Cephacetril, BAY Vp 2674 (Baytril®) und Gentamicin gegenüber
euterpathogenen Streptokokken

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Thomas Winter
aus
Hammelburg

München 1988



Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Universität München
Lehrstuhl Prof. Dr. M. Rüsse
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. K. Walser

**Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration von
Cephacetril, BAY Vp 2674 (Baytril®) und Gentamicin gegenüber
euterpathogenen Streptokokken**

**Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

von
Thomas Winter
aus
Hammelburg
München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: _____ Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: _____ Prof. Dr. K. Walser

Korreferent: _____ Prof. Dr. F. Graf

Tag der Promotion: _____ 26. Februar 1988

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	4
2.	Literaturübersicht	6
2.1.	Die Streptokokken	6
2.1.1.	Historisches	6
2.1.2.	Taxonomie	7
2.1.3.	Klassifizierung und Differenzierung	8
2.1.3.1.	Morphologie	8
2.1.3.2.	Hämolysenformen	8
2.1.3.3.	CAMP-Test	9
2.1.3.4.	Äskulinspaltung	10
2.1.3.5.	Hippurat-Test	10
2.1.3.6.	Serologie	11
2.2.	Bedeutung der Streptokokken als Mastitiserreger	11
2.2.1.	<i>Streptococcus agalactiae</i> (B)	14
2.2.2.	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> (C)	16
2.2.3.	<i>Streptococcus uberis</i> (E)	18
2.2.4.	Streptokokken anderer serologischer Gruppen	19
2.3.	Die Streptokokkenmastitis	22
2.3.1.	Vorkommen und Bedeutung	22
2.3.2.	Ätiologie und Pathogenese	23
2.3.3.	Klinisches Bild und Verlauf	24
2.3.4.	Pathomorphologie	25
2.3.5.	Therapie	25
2.4.	Chemotherapeutika	26
2.4.1.	Cephacetril	26
2.4.1.1.	Allgemeines	26
2.4.1.2.	Chemie	27
2.4.1.3.	Antibakterielle Wirksamkeit	28
2.4.1.4.	Wirkungsweise	31
2.4.1.5.	Pharmakokinetik	31
2.4.1.5.1.	Resorption	31
2.4.1.5.2.	Verteilung	33
2.4.1.5.3.	Ausscheidung	35
2.4.1.6.	Nebenwirkungen	36

2.4.1.7.	Resistenz	36
2.4.2.	BAY VP 2674	37
2.4.2.1.	Allgemeines	37
2.4.2.2.	Chemie	37
2.4.2.3.	Antibakterielle Wirksamkeit	38
2.4.2.4.	Wirkungsweise	39
2.4.2.5.	Pharmakokinetik	41
2.4.2.5.1.	Resorption	41
2.4.2.5.2.	Verteilung	43
2.4.2.5.3.	Ausscheidung	44
2.4.2.6.	Nebenwirkungen	45
2.4.3.	Gentamicin	45
2.4.3.1.	Allgemeines	45
2.4.3.2.	Chemie	45
2.4.3.3.	Antibakterielle Wirksamkeit	47
2.4.3.4.	Wirkungsweise	49
2.4.3.5.	Pharmakokinetik	50
2.4.3.5.1.	Resorption	50
2.4.3.5.2.	Verteilung	51
2.4.3.5.3.	Ausscheidung	53
2.4.3.6.	Nebenwirkungen	54
2.4.3.7.	Resistenz	55
3.	Eigene Untersuchungen	56
3.1.	Material	56
3.2.	Methodik	57
3.2.1.	Bakteriologische Untersuchung	57
3.2.1.1.	Blutagar	57
3.2.1.2.	Edwards Medium	57
3.2.1.3.	Differenzierung der Streptokokken	58
3.2.2.	Resistenzbestimmung	59
3.2.3.	Bestimmung der MHK im Agarverdünnungsverfahren	60
3.2.3.1.	Herstellung der Stammlösungen	61
3.2.3.2.	Herstellung der Verdünnungsreihen	61
3.2.3.3.	Herstellung der Agar-Platten	63
3.2.3.4.	Beimpfen der Agar-Platten	64
3.2.3.4.1.	Einstellen der Keimzahl	64

3.2.3.4.2.	Ausstreichen des Inokulums	65
3.2.3.5.	Auswertung	66
3.2.3.6.	Statistische Beurteilung	66
4.	Untersuchungsergebnisse	67
4.2.	Ergebnis des Resistenztestes	67
4.3.	Ergebnis der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration	70
5.	Diskussion	77
5.1.	Ergebnis der Resistenzbestimmung	78
5.2.	Ergebnis der MHK-Bestimmung	79
6.	Zusammenfassung	83
7.	Summary	84
8.	Literaturverzeichnis	85

1. Einleitung

Mastitiden zählen zu den häufigsten Erkrankungen in der tierärztlichen Praxis.

Sie haben eine hohe volkswirtschaftliche Bedeutung, da sie die Rentabilität der Milchviehhaltung durch den Ausfall an Milch, Behandlungskosten und gegebenenfalls durch die Notwendigkeit vorzeitigen Schlachtens beeinträchtigen.

Weltweite Untersuchungen in Ländern mit intensiver Milchviehhaltung ergaben, daß etwa 50% aller Kühe und ca. 25% aller Euterviertel an einer chronischen oder subklinischen Euterinfektion erkrankt sind.

Meist handelt es sich bei diesen Erkrankungen um chronische oder subklinische Streptokokken-Mastitiden; die akute Verlaufsform ist weniger häufig anzutreffen.

Obwohl heute für die Therapie viele wirksame Medikamente (Antibiotika) zur Verfügung stehen, sind die klinischen Erfolge doch sehr oft unbefriedigend.

Aus dieser unzureichenden Medikation resultiert eine steigende Quote antibiotikaresistenter Erreger.

Für eine gezielte Behandlung sind deshalb mittlerweile Sensibilitätsprüfungen bakterieller Erreger unentbehrlich. Die zur Verfügung stehenden Verfahren haben sich allerdings noch längst nicht als obligate Routine in der tierärztlichen Praxis durchgesetzt.

Die Sensibilitätsprüfungen mit dem einfachen Blättchentest sind unkompliziert und auch in der Praxis schnell durchführbar. Dieser Test sagt aus, ob ein Medikament gegen einen bestimmten Erreger wirkt, nicht aber, welche Dosis für eine erfolgreiche Behandlung erforderlich ist.

Deshalb sind Verfahren zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) vorteilhafter.

Die MHK ist die geringste Konzentration eines antibakteriellen Wirk-

stoffs, bei der die Vermehrung einer Keimpopulation unter definierten Bedingungen verhindert wird.

Vom Normenausschuß Medizin im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. wurde 1979 eine Norm veröffentlicht, die eine weitgehende Standardisierung der Bestimmung der MHK gewährleistet.

Bislang gibt es im Vergleich zu den vielen durchgeführten Resistenzprüfungen mit dem Blättchentest nur sehr wenige Ergebnisse von Bestimmungen der MHK.

Eine Vielzahl entsprechender Prüfungen wird noch in der Zukunft zu leisten sein.

Mit der vorliegenden Arbeit wird die MHK von Cephacetril, BAY VP 2674 und Gentamicin für eine Reihe verschiedener euterpathogener Streptokokken bestimmt.

Daneben wird ein normaler routinemäßiger Resistenztest nach der Blättchenmethode durchgeführt.

Schließlich soll die Leistung der beiden Methoden miteinander verglichen werden.

2. Literaturübersicht

2.1. Die Streptokokken

2.1.1. Historisches

1873 gelang LISTER die erste Züchtung von *Streptococcus lactis* in Reinkultur. Dies war auch die erste benannte Streptokokkenspezies. Die erste Reinkultur von Wundstreptokokken wurde 1884 von ROSENBACH hergestellt. Von ihm stammt auch die Benennung der Gattung "Streptococcus".

1903 führte SCHOTTMÜLLER den Blutagar in die bakteriologische Diagnostik humanpathogener Streptokokken ein.

1919 entwickelte BROWN die Einteilung der Streptokokken aufgrund verschiedener Hämolyseformen.

Die Nomenklatur und Differenzierung der Milchsäurestreptokokken wurde 1919 von ORLA-JENSEN entwickelt.

1923 gelang AVERY und HEIDELBERGER die Identifizierung des typenspezifischen Polysaccharid-Antigens bei Pneumokokken.

Die Unterteilung von *Streptococcus pyogenes* in 27 serologische Typen mit Hilfe der Agglutination stammt von GRIFFITH (1926).

Der bis heute größte Fortschritt in der Differenzierung des Genus *Streptococcus* ist LANCEFIELD zu verdanken. Sie entwickelte die Präzipitationsreaktion als Mittel der serologischen Gruppen- und Typendifferenzierung von Streptokokken (HAHN et al., 1970)

2.1.2. Taxonomische Stellung der Streptokokken

Nach BERGEY'S MANUAL (1985) ist dem Genus "Streptococcus" folgende taxonomische Stellung zuzuordnen (HAHN et al., 1970):

I. Abteilung	Protophyta
II. Klasse	Schizomycetes
IV. Ordnung	Eubacteriales
X. Familie	Lactobacillaceae
I. Tribus	Streptococcaceae
I. Genus	Diplococcus
II. Genus	Streptococcus
III. Genus	Pediococcus
IV. Genus	Leuconostoc
V. Genus	Peptostreptococcus



2.1.3. Klassifizierung und Differenzierungsmethoden

Der Klassifizierung dienen bestimmte Eigenschaften der Streptokokken und Nachweisverfahren.

2.1.3.1. Morphologie

Streptokokken-Zellen sind rund oder ovoid. Sie wachsen in Paaren oder charakteristischen Ketten und sind mit wenigen Ausnahmen unbeweglich (BLOBEL, 1980).

Zur Anzüchtung aller Streptokokkenarten wird als festes Medium Blutagar verwendet. Die Bakterien bilden darauf verhältnismäßig kleine Kolonien von 0,5-1 mm Durchmesser. Sie erscheinen farblos opaleszent und haben einen meist glatten, manchmal unregelmäßigen Rand (HALLMANN und BURKHARDT, 1974; BLOBEL, 1977). In Bouillon wachsen Streptokokken in kurzen, mittellangen und langen Ketten, entweder unter gleichmäßiger Trübung der Bouillon oder unter Bildung eines schleimig flockigen Bodensatzes (HAHN et al., 1970). Generell besitzen Streptokokken in Kulturpräparaten gute Färbbarkeit (HALMANN und BURKHARDT, 1974).

2.1.3.2. Hämolyseformen

Ein wesentliches Hilfsmittel zur Identifizierung und Vordifferenzierung von Streptokokken ist die Ausbildung der verschiedenen Hämolyseformen auf Blutagar.

Folgende Hämolyseformen werden unterschieden (HAHN et al., 1970):

- α - Hämolyse: Um die Kolonie bildet sich eine aufgehellte Zone. Die teilweise gelösten Erythrozyten lassen sich darin mit einer Lupe als ein gepunktetes Feld erkennen.
- β - Hämolyse: Um die Kolonie kommt es zur kompletten Hämolyse sämtlicher Erythrozyten.
- γ - Hämolyse: keine Veränderung der Erythrozyten
Vergrünung: Grünschimmer über der α - Hämolyse.

SELLEMANN (1954) unterscheidet zwischen

α - Hämolyse mit schwacher Erythrozytolyse

α' - Hämolyse mit etwas stärkerer Auflösung der Erythrozyten

β - Hämolyse mit deutlicher hämolytischer Zone

γ - Hämolyse ohne jegliche Zelllysis

ROLLE und MAYR (1984) unterscheiden ebenfalls eine α und α' - Hämolyse, fassen sie aber zu einer Gruppe zusammen. SCHALM et al., (1971) bezeichnen die α' - Hämolyse als Zwischenform zwischen α - Hämolyse und β - Hämolyse.

2.1.3.3. CAMP - Test

Dieser Test wurde nach den Anfangsbuchstaben seiner Entdecker CHRISTIE, ATKINS und MUNCH-PETERSEN (1944) bezeichnet. Der CAMP-Test wird als Plattentest durchgeführt. Auf Kälber- oder Schafblutagar wird im rechten Winkel zu einem β - Toxin bildenden Staphylococcus aureus-Stamm der fragliche Streptokokken-Stamm ausgestrichen. Nach 18-24 stündiger Inkubation bildet sich im Bereich der Staphylolysin-Zone eine schalen- bis trichterförmige Hämolyse (BLOBEL, 1977, 1980).

Falschpositive Ergebnisse können bei Streptokokken der serologischen Gruppe A,C,E,G auftreten (REMMERS, 1975). Die Zuverlässigkeit des CAMP-Testes liegt bei etwa 96-98% (HAHN et al., 1970). Bis zu 14,9% der Streptococcus uberis-Stämme zeigen einen positiven CAMP-Test. Deshalb wird zur Differenzierung der Zusatz von Äskulin empfohlen (SCHALM et al., 1971).

2.1.3.4. Äskulinspaltung

Dieses Verfahren dient zur Vordifferenzierung der Streptokokken auf Blutagar. Äskulin ist ein Glykosid aus der Rinde der Roßkastanie. Es zeigt im filtrierte UV-Licht blaue Floreszenz. Das Glykosid wird von Streptokokken der serologischen Gruppen D,E,N,P,Q,R,S,T,U und einigen serologisch nicht eingrupprierbaren Streptokokken hydrolytisch in Traubenzucker und Äskulitin gespalten. Bei positiver Reaktion, d.h. bei Äskulinspaltung tritt statt der blauen Fluoreszenz eine bräunlich-schwarze Färbung auf (DIRNHOFER, 1932).

2.1.3.5. Hippurat-Test

Mehr als 99% der Streptokokken (serologische Gruppe B) können durch den Nachweis der Hippurat-Spaltung identifiziert werden. Die hydrolytische Spaltung von Hippursäure in Benzoessäure und Glykokoll ist eine typische Eigenschaft der Galtstreptokokken (FARKLAM et al., 1974).

Benzoessäure - und damit die Hippuratspaltung - läßt sich mit 12%-iger Eisenchloridlösung nachweisen. Nach dem Fe-Zusatz entsteht ein bräunlicher unlöslicher Niederschlag aus Eisenbenzoat. Dieser Test verlangt 48 Stunden Bebrütungszeit (Mc DONALD und Mc DONALD, 1976; FERRIERI et al., 1972).

Man kann die Hippuratspaltung auch über das entstandene Glykokoll nachweisen. Mit Ninhydrin-Reagens bildet sich eine tief purpurrote Farbe. Dieser Test verlangt nur 2 Stunden Bebrütungszeit (HWANG und EDERER, 1974).

2.1.3.6. Serologische Differenzierung

Seit LANCEFIELD (1933) beruht die Streptokokken-Klassifizierung auf dem serologischen Nachweis spezifischer Gruppen- und Typenantigene.

Die der serologischen Gruppendifferenzierung dienenden Antigene sind Polysaccharide, sogenannte C-Substanzen, die mit Ausnahme der serologischen Gruppen D und N in den inneren Schichten der Zellwand lokalisiert sind.

Für die Extraktion des Antigens stehen verschiedene Methoden zur Verfügung: Salzsäureextraktion nach LANCEFIELD 1933, Formamidextraktion nach FULLER 1939, Enzymextraktion nach MAXTED 1948, Autoklavenextraktion nach RANTZ und RANDALL 1955.

Die Gruppenantigene werden durch Präzipitation nachgewiesen. Die Typenantigene innerhalb der serologischen Gruppen sind in den äußeren Schichten der Zellwand oder in der Kapsel lokalisiert. Diese Protein- oder Kohlenhydratverbindungen werden in der Präzipitation oder Agglutination nachgewiesen (HAHN et al., 1970).

2.2. Bedeutung der Streptokokken als Mastitiserreger

Streptokokken sind neben Staphylokokken die vorherrschenden Erreger der Mastitis des Rindes (KUNTER, 1975; BERGMANN et al., 1980). Schon 1887 gelang NOCARD und MOLLEREAU die Bestimmung von Streptokokken als Verursacher der Mastitis.

Die drei klassischen Mastitiserreger in der Gattung *Streptococcus* sind *Sc.agalactiae* (Galtstreptokokken), *Sc.dysgalactiae* und *Su.uberis* (HAHN und TOLLE, 1979; HAHN, 1981).

Noch vor wenigen Jahrzehnten hatte *Sc.agalactiae* innerhalb der durch Streptokokken verursachten Euterinfektionen eine überragende Bedeutung (SEELEMAN und OBIGER, 1958; HEESCHEN und MEYER, 1965; SCHAEERER et al., 1984).

Heute stehen zunehmend andere Streptokokken, besonders *Sc.dysgalactiae* und *Sc.uberis* sowie Enterokokken im Vordergrund (SCHAEERER et al., 1984).

Noch 1950 fand STABLEFORTH bei 808 Fällen, bei denen Bakterien aus Euterentzündungen isoliert wurden, zu 44% *Sc.agalactiae*, zu 10% *Sc.dys-*

galactiae und zu 4% *Sc.uberis* (STABLEFORTH, 1950).

Die Untersuchungen von KIELWEIN et al. (1962) ergaben, daß 60% der dem Eutergesundheitsdienst angeschlossenen Betriebe mit gelben Galt ver-
seucht waren. HEESCHEN und MEYER (1965) werteten 5000 Milchproben aus.
Sie isolierten daraus 194 verschiedene Streptokokken-Stämme. 23 davon
gehörten zur Lancefield-Gruppe B, 48 zur Gruppe C, 57 zur Gruppe D. 41
waren *Sc.uberis*-Stämme.

HOFFMANN (1971) untersuchte während eines Jahres 15396 Milchproben. Er
konnte 1295 Streptokokken-Stämme isolieren. Davon zählten 60% zur
Lancefield-Gruppe B, 10,2% zur Gruppe C und 5,86% zur Gruppe E.

HERTEL (1975) untersuchte verschiedene Milchviehbestände in West- und
Osteuropa. Er fand in 40,6% der Mastitiden Streptokokken als Erreger
(17,7% Galt-Streptokokken und 22,9% nicht-Galt-Streptokokken).

In England ergab eine Untersuchung von Januar bis Mai 1980 folgende
Verteilung der verursachenden Keime bei Euterentzündungen:

<i>Staph.aureus</i>	21,5%
<i>Sc.agalactiae</i>	2,8%
<i>Sc.dysgalactiae</i>	11,4%
<i>Sc.uberis</i>	17,2%
<i>E.coli</i>	26,8%

31,4% aller Mastitiden waren durch Streptokokken verursacht (BRAMLEY,
1984).

Auch eine 1981 durchgeführte Mastitiserhebung des Eutergesundheitsdien-
stes Bern ergab eine ähnliche Verteilung (SCHIFFERLI et al., 1984):
21% der untersuchten Kühe hatten eine klinische oder subklinische Mas-
titis. Vier regionale Laboratorien konnten 1979 und 1980 1809 verschie-
dene Bakterienstämme von klinisch gesicherten Mastitiden sammeln. Davon
waren 32,3% durch Streptokokken verursacht.

In galtsanierten Betrieben verschieben sich die Anteile der verschie-
denen Keime bei den Euterentzündungen:

Mc. DONALD und Mc. DONALD (1976) stellten bei Mastitiden in galtfreien
Kuhherden zu 56,5% *Sc.uberis*, 24,2% Enterokokken, 9,0% *Sc.dysgalactiae*,
1,5% *Sc.agalactiae*, 5,1% *Sc.bovis* und 3,1% nicht klassifizierbare
Streptokokken fest.

BERGMANN et al. (1980) untersuchten im Zeitraum von 2 Jahren (November

1975 bis Oktober 1977) den bakteriologischen Status in sieben großen, industriemäßig produzierenden Milchviehanlagen, die galfrei bzw. schwach galfree waren. Bei 1238 Isolaten, die zur Differenzierung zur Verfügung standen, ergab sich folgendes Bild:

47,73% der festgestellten Streptokokken zählten zur Lancefield-Gruppe C, 24,63% nicht eingrupprierbare Streptokokken, 10,25% Gruppe-B Streptokokken, 7,7% *Sc.uberis*, und 4,92% Gruppe-D-Streptokokken

BERGMANN und Mitarbeiter erklären sich den hohen Anteil an *Sc.dysgalactiae* damit, daß durch die Galtsanierung in den Beständen andere Keime in die entstehende ökologische Nische eindringen können und damit zu den vorherrschenden Mastitiserregern werden.

In der Routinediagnostik kann man die als Mastitiserreger bekannten Streptokokken in Bezug auf Epidemiologie und Bekämpfung in 5 verschiedene "Gruppen" einteilen (GEDEK, 1981):

- | | |
|--|--|
| a) <i>Sc.agalactiae</i> | Äskulin neg., CAMP-pos.,
Hippurat pos. |
| b) β - hämolysierende Streptokokken
(außer <i>Sc.agalactiae</i>) | Äskulin neg., CAMP-neg.
β - Hämolys pos. |
| c) äskulinnegative Streptokokken
(außer <i>Scagalactiae</i> und β - hämo-
lysisierende Streptokokken). | Äskulin neg., CAMP-neg.,
β - Hämolys neg. |
| d) äskulinpositive Streptokokken
(außer Enterokokken) | Äskulin pos., 45° C neg. |
| e) Enterokokken | Äskulin pos., 45° C pos. |

Im folgenden Kapitel werden die für die Rindermastitis bedeutendsten Streptokokken verschiedener serologischer Gruppen beschrieben. Neben den drei klassischen Mastitiserregern *Sc.agalactiae* (Lancefield-Gruppe B), *Sc.dysgalactiae* (Lancefield-Gruppe C) und *Sc.uberis* (Lancefield-Gruppe E) sind das auch seltener vorkommende Mastitiserreger anderer serologischer Gruppen:

Gruppe A (*Sc. pyogenes humanus* A)
 β -hämolisierende der Gruppen G und L
D-Streptokokken (Enterokokken)
C-Gruppe (*Sc. equisimilis*, *Sc. equi*, *Sc. zooepidemicus*)
L und N-Gruppe.

2.2.1. *Streptococcus agalactiae*

Beim Rind ist der "Gelbe Galt", verursacht durch *Sc. agalactiae* die ansteckendste Euterkrankheit.

Der Keim ist hochkontagiös und kann Bestandsseuchen auslösen (SEELEMANN, 1954; NEWBOULD, 1975; BLOBEL, 1980).

Sc.agalactiae ist ein obligater Parasit des Kuheuters. Im Unterschied zu anderen Keimen wird *Sc.agalactiae* nicht in anderen Körperteilen des Rindes, aber oft in seiner Umgebung gefunden (Mc. DONALD, 1977; HESS und MEYER, 1978; BLOBEL, 1980).

Versuche, Kühe mit *Sc.agalactiae* zu infizieren, zeigten, daß dieser Keim nur durch direktes Einspritzen des infizierten Materials in den Zitzenkanal oder durch Bestreichen der äußeren Zitzenhaut übertragen werden kann. Es besteht deshalb kein Zweifel mehr, daß die Übertragung von Kuh zu Kuh durch den Melkakt erfolgt (STABLEFORTH, 1950).

Sc.agalactiae zählt auch heute noch zu den am häufigsten nachgewiesenen Erregern der Mastitis beim Rind.

In zunehmenden Maße gewinnt er aber auch als menschenpathogenes Bakterium an Relevanz. Im Mittelpunkt stehen Infektionen des Urogenitale der Frau. Von dort kann *Sc.agalactiae* auf den Neugeborenen übertragen werden. Bei 20% aller Sepsisfälle beim Säugling läßt sich *Sc.agalactiae* als Ursache feststellen. Die Infektion beim Säugling kann eine meist perakute, oft tödliche Meningitis auslösen. Durch epidemiologische Un-

tersuchungen wurde nachgewiesen, daß auch die Übertragung von Rind auf den Menschen, besonders durch den Genuß von roher Milch möglich ist (STABLEFORTH, 1950; TOLLE, 1972; BLOWEL, 1980; SCHÜTZ, 1980).

Noch vor wenigen Jahrzehnten hatte *Sc.agalactiae* eine überragende Bedeutung bei der Rindermastitis.

STABLEFORTH ermittelte in den Jahren 1942-43 bei 808 Fällen von Mastitis in 44% *Sc.agalactiae* als verursachenden Keim. Weitere Untersuchungen im Jahre 1984 von 50 Rinderherden mit Euterinfektionen ergaben noch 24,8% Anteil von *Sc.agalactiae* (STABLEFORTH, 1950).

GEDEK (1981) isolierte 505 Streptokokken-Stämme aus über 300 Milchviehherden in Bayern. Alle Keime stammten aus Eutervierteln mit subklinischer Mastitis. 131 der isolierten Stämme waren *Sc.agalactiae*.

TOLLE (1972) klassifizierte 12.000 Bakterienstämme, die zwischen 1965 und 1970 aus Kuheutern isoliert worden waren. Er fand *Sc.agalctiae* zu 16,9%

Die Verschiebung des Erregerspektrums in der letzten Zeit resultiert aus einer verbesserten Diagnostik, intensivierter Mastitisprophylaxe (Zitzentauchen, Euterschutzpräparate beim Trockenstellen, verbesserte Melktechnik) und vermehrtem Einsatz von Antibiotika (SCHAEREN et al., 1984).

Nach WILSON (1969) fiel der Anteil von *Sc.agalactiae* an den Mastitis-erregern in England in den Jahren 1942 bis 1962 sogar von 44% auf 4% (BLOBEL, 1980).

Sc.agalactiae wächst auf Blutagar unter Ausbildung einer α -, β - oder γ -Hämolyse.

In Bouillon entwickelt der Keim unterschiedlich lange Ketten bei Bildung einer gleichmäßigen Trübung oder eines schleimig-flockigen Bodensatzes (BLOBEL, 1980).

Das biochemische Leistungsspektrum von *Sc.agalactiae* ist gekennzeichnet durch fehlende Hydrolyse von Äskulin und gleichzeitige Spaltung von Na-Hippurat (BLOBEL, 1980).

Zur besseren Erkennung von Galt-Streptokokken entwickelten HAUGE und KOHLER-ELLINGSEN (1953) das TKT-Medium. Es besteht aus einer modifizierten Edwards-Blutplatte mit Kristallviolett und Thalliumsulfat als Hemmstoffe und inokuliertem Staphylokokken- β -Toxin. Thalliumsulfat und Kristallviolett hemmen die Begleitflora. *Sc.agalactiae* entfaltet unter der Wirkung des im Agar vorhandenen β -Toxins seine hämolytische

Aktivität. Dann sind die Kolonien von einer klaren β -Hämolyse umgeben. Eine Gruppendifferenzierung ist mit dem TKT-Medium aber nicht möglich (THAL und OBIGER, 1969).

Der Nachweis von *Sc.agalactiae* gelingt einwandfrei nur durch die Bestimmung der serologischen Gruppe B.

Aber auch der CAMP-Test ist ein einigermaßen zuverlässiges Suchkriterium:

Nach HEESCHEN (1965) und MITSCHERLICH (1965) erfaßt dieser Test 96-98% aller B-Strptokokken.

HELLMANN (1971) schreibt nach seinen Untersuchungen dem CAMP-Test eine Zuverlässigkeit von 79,5% zu.

2.2.2. *Streptococcus dysgalactiae*

Sc.dysgalactiae hat seine Bedeutung beim Tier fast ausschließlich als einer der klassischen Mastitiserreger beim Rind. Außerdem kann der Keim beim Schaf Metritis und Arthritis hervorrufen (HAHN et al., 1970; BLOBEL, 1977).

Sc.dysgalactiae läßt sich unter Haustieren in den Tonsillen von Rind und Schwein, der Nasenschleimhaut des Kalbes, dem Respirationstrakt des Schweines und dem Urogenitale von Rind und Schwein auffinden (BLOBEL, 1980).

In Pathogenese und klinischem Bild entsprechen die durch *Sc.dysgalactiae* hervorgerufenen Mastitiden weitgehend den durch *Sc.agalactiae* verursachten.

Nach Mc. DONALD und Mc. DONALD (1976) verläuft eine Euterinfektion mit *Sc.dysgalactiae* meist akuter als die mit *Sc.agalactiae*. Sie breitet sich aber nicht so schnell innerhalb einer Kuhherde aus.

Bislang wurde erst ein Fall einer Infektionskrankheit mit *Sc.dysgalactiae* beim Menschen bekannt: Es gelang, den Keim im Blut eines Patienten mit Endocarditis lenta nachzuweisen (HAHN et al., 1970).

Sc.dysgalactiae wurde 1932 erstmals von DIERNHOFER (1950) beschrieben. Der Keim wächst auf Blutagar meist unter Bildung einer α -Hämolyse mit Vergrünung.

In Bouillon wächst er unter Bildung von mittellangen Ketten und einer gleichmäßigen Trübung.

Der Nachweis des Bakteriums erfolgt durch Präzipitation mit Gruppe - C -Serum, das Fehlen einer β -Hämolysen und einen negativen CAMP-Test (SEELEMANN, 1954; HAHN et al., 1970).

Sc.dysgalactiae zeigt keine Na-Hippurat-Spaltung und hydrolysiert Äskulin nicht (STABLEFORTH, 1950; BLOBEL, 1980).

Als einzige beschrieben Mc. DONALD und Mc. DONALD (1976) die Beobachtung, daß 31,7% von 41 Isolaten von *Sc.dysgalactiae* fähig waren, Äskulin zu spalten. Da alle anderen Reaktionen typisch waren, schrieben sie diese Isolate aber ebenfalls *Sc.dysgalactiae* zu.

Mit dem gemeinsamen Gruppenantigen der serologischen Gruppe C lassen sich Stämme von *Sc.dysgalactiae* nicht von den Arten *Sc.zooepidemicus*, *Sc.equisimilis* und *Sc.equi* unterscheiden (BLOBEL, 1980).

STABLEFORTH (1950) konnte aus 808 Bakterienkulturen, die von Mastitiden gewonnen wurden, in 10% *Sc.dysgalactiae* isolieren. Ähnliche Ergebnisse ergaben seine Untersuchungen im Jahre 1948, als er bei 50 Rinderherden mit Mastitis in 5,3% der Fälle *Sc.dysgalactiae* feststellte.

Gegenwärtig wird ein höherer Prozentsatz von *Sc.dysgalactiae* bei Mastitiden gewonnen, vor allem in galtsanierten Betrieben:

Während noch Mc. DONALD und Mc. DONALD (1976) unter 455 Streptokokkenisolaten in 9% *Sc.dysgalactiae* feststellten, konnten BERGMANN et al., (1980) unter 1238 Isolaten aus galtsanierten Betrieben in 47,93% der Fälle differenzierte Stämme der Gruppe C ausmachen. Fast alle Stämme (587 von 591) waren α -hämolytisch.

GEDEK (1981) bestimmte unter 505 isolierten Streptokokken-Stämmen 122 Stämme der serologischen Gruppe C.

2.2.3. Streptococcus uberis

Sc.uberis ist als Mastitiserreger bei Rind und Schaf bekannt.

Er kann beim Rind auch aus Tonsillen und Intestinum und von der äußeren Haut isoliert werden. Von der Euterhaut kann der Erreger häufiger gewonnen werden, als aus der Milchdrüse selbst. Auch auf Weidefutter ist er zu finden (HAHN et al., 1970; HAHN, 1981).

Sc.uberis wurde 1932 von DIERNHOFER als besondere Art eines Mastitis-erregers erstmals benannt.

Zu seinen Eigenschaften zählt die Spaltung von Na-Hippurat und Äskulin. Im Blutagar entwickelt er eine meist ausgeprägte α - oder γ - Hämolyse. Auf Edwards-Medium bildet er schwärzliche Kolonien (Äskulinspaltung). In Bouillon zeigt sich eine gleichmäßige Trübung mit Bildung von kleinen ovalen Kokken, kurzen bis langen Ketten oder Wachstum in Diploform. Sc.uberis gehört in die serologische Gruppe E. Die taxonomische Stellung als selbständige serologische Gruppe ist klar definiert. Die Stellung von Sc.uberis als Angehöriger der Gruppe E wird aber immer noch diskutiert.

Die Diagnose beruht auf der fehlenden β - Hämolyse und der Reaktion mit Gruppe E Serum, oder auf der fehlenden β - Hämolyse und der Spaltung von Mannit und meist auch Inulin sowie der Hydrolyse von Äskulin und Na-Hippurat (HAHN et al., 1970).

SCHAEREN et al.(1984) geben als weiteres nützliches Unterscheidungskriterium in der Gruppe der Äskulin-spaltenden Streptokokken den Nachweis der β - Glucuronidase an.

Normalerweise gilt Sc.uberis als CAMP-negativer Keim. Es gibt aber auch viele CAMP-positive Streptokokken der serologischen Gruppe E. Das sind:

nach HELLMANN et. al. (1971)	14 %
HEESCHEN et. al. (1967)	12,1%
Mc. DONALD und Mc. DONALD (1976)	56 %
BEERWERTH und KÖSER (1965)	88,8%

Die Verbreitung von Mastitiden durch Sc.uberis variiert stark in verschiedenen Ländern, von einer Infektionsrate bei 5% der Kühe in den USA bis zu 28% in Frankreich (BLOBEL, 1980). STABLEFORTH (1950) stellte Sc.uberis bei 5% von 6000 Kühen mit Mastitis in England fest.

SCHAEREN et al. (1984) untersuchten 107 CAMP-negative, äskulin-positive Streptokokken-Stämme. 88 (82%) davon waren *Sc.uberis* Stämme. Sie kamen deshalb zu dem Schluß, daß im Einzugsgebiet ihres Labors etwa die Hälfte aller Streptokokken-Mastitiden durch *Sc.uberis* verursacht sein muß. Über Erkrankungen durch *Sc.uberis* beim Menschen ist bis heute nichts bekannt.

2.2.4. Streptokokken, die selten Mastitiden verursachen

Streptokokken der serologischen Gruppe A sind hauptsächlich aus humanmedizinischer Sicht von Interesse. Der Keim trägt deshalb auch die Bezeichnung *Sc.pyogenes humanus A*. Er tritt nur selten als Krankheitserreger beim Tier auf (ROLLE und MAYR, 1984).

Das Keimreservoir liegt beim Menschen.

Die Krankheiten beim Menschen sind: Pharyngitis, Scharlach, Glomerulonephritis, Hautinfektionen in Form von Erysipel und Pyodermie, Bakteriämien und rheumatisches Fieber.

Aus tiermedizinischer Sicht ist besonders wichtig, daß vom keimtragenden Menschen her Infektionen des Kuheuters und der Milch möglich sind. Mastitiden des Rindes verlaufen akut mit z.T. erheblichen klinischen Erscheinungen (SEELEMANN, 1954; FRIEDING, 1972).

Der Keim wächst auf Blutagar in kleinen, runden Kolonien mit β -Hä-molyse. In Bouillon bildet er einen flockigen Bodensatz mit klarem Überstand.

Er spaltet Trehalose, nicht aber Sorbit (ROLLE und MAYR, 1984).

Der Nachweis gelingt durch Präzipitation mit Serum der Gruppe A. Auch die Bacitracinempfindlichkeit des Keimes ist ein sicheres Suchkriterium. Der Zuverlässigkeitsgrad liegt hier bei 80-99%. Beim Menschen kann man diese Streptokokken fast ausschließlich aus dem Rachenraum gewinnen (HAHN et al., 1970).

Streptokokken der serologischen Gruppe A bilden eine Reihe extrazellulärer Substanzen wie Streptolysin, Streptokinase, Hyaluronidase und Proteinase, die in der Humanmedizin z.T. als Therapeutika Anwendung finden (HAHN et al., 1970).

Die β -hämolsysierenden Streptokokken der Gruppe G kommen bei Mensch und Tier vor, auch bei Mastitiden des Rindes. (MILLER und HEISHMANN, 1944; ROMER, 1953).

Sie treten verhältnismäßig häufig in Dänemark und Amerika auf (DIERNHOFER, 1950).

ROMER (1953) fand sie in Dänemark bei 27,2% der Kühe aus 13 Beständen. Sie kommen in der Mehrzahl bei klinischen Mastitiden vor. In der BRD ist dieser Keim wenig bekannt (DIERNHOFER, 1950). HEIDRICH und RENK (1963) gaben Streptokokken der serologischen Gruppe G als gelegentliche Mastitiserreger an. WEIGT und GRUNERT (1964) fanden unter 1722 untersuchten Milchproben in 8 Fällen sogenannte seltene Mastitis-Streptokokken der serologischen Gruppe G,H,L und P.

HAHN (1981) gibt die β -hämolsysierenden Streptokokken der Gruppe G und L als Ursache enzootisch auftretender Mastitiden an.

Streptokokken der Gruppe D (Enterokokken) sind relativ selten am Mastitisgeschehen beteiligt.

Sie zählen zur physiologischen Darmflora bei Mensch und Tier. Sie lassen sich im Kot, im Stall, ebenso im Stallstaub und der Milch nachweisen (SEELEMANN und OBIGER, 1958; HAHN, 1981).

Der Keim hat lebensmittelhygienische Bedeutung als Indikator für fäkale Verunreinigungen. Er gilt als sog. Verderberreger (ROLLE und MAYR, 1984).

Zur Abgrenzung der Enterokokken gegenüber *Sc.uberis* dient ihre Fähigkeit, bei 45°C zu wachsen (HAHN, 1981).

Nach den Angaben von HEESCHEN et al. (1967) wachsen 97,8% aller Enterokokken bei 45°C.

Enterokokken werden bei Serienuntersuchungen von Eutern immer wieder gefunden:

KUNTER (1975) ermittelte bei Untersuchungen von 3196 Streptokokkenstämmen aus Rindereutern 1,2 bzw. 2,4% D-Streptokokken. GEDEK (1981) isolierte 506 Streptokokken-Stämme aus Rindereutern. 36 davon waren Enterokokken-Stämme. HELLMANN und HENSCHKE (1971) fanden bei zwei Untersuchungen aus dem Euter isolierter Streptokokken bei 274 bzw. 373 Stämmen 14,6% bzw. 21,4% D-Streptokokken. Einen noch höheren Anteil an D-Streptokokken isolierten HEESCHEN und MEYER (1965) bei ihren Untersuchungen von Mastitis-Erregern, und zwar 25,2%.

SCHAEREN et al.(1984) fand unter 107 CAMP-negativen, Äskulin-positiven Streptokokken-Stämmen zu 15% Enterokokken. Mc. DONALD und Mc. DONALD (1976) konnten unter ihren Isolaten in 24,2% Enterokokken feststellen.

Die serologische Gruppe C umfaßt vier verschiedene Streptokokken-Spezies. Sie gleichen sich aufgrund ihrer gemeinsamen C-Polysaccharide. Hinsichtlich Vorkommen und Pathogenität verhalten sie sich aber sehr unterschiedlich (FRIEDING, 1972).

Sc.equisimilis wird im Rachenraum von gesunden wie kranken Menschen gefunden. Als Erkrankungen werden Haut-, Wund- und Puerperalinfectionen genannt.

Bei Schwein, Rind und Pferd sind Infektionen des Urogenitale bekannt. Der Keim wurde auch als Milch isoliert. Er spaltet Trehalose, nicht Sorbit, zeigt eine β -Hämolysen und Präzipitation mit Gruppe-C-Serum (FRIEDING, 1972). Sc.equi hat nur beim Pferd Bedeutung als Erreger der Druse (ROLLE und MAYR, 1984). Sc.zooepidemicus kommt als Krankheitserreger bei allen Tierarten vor. Beim Pferd verursacht der Keim Erkrankungen der oberen Luftwege. Als Erreger von Euterentzündungen wird er gelegentlich bei Schaf und Rind isoliert (ROLLE und MAYR, 1984). Der β -hämolyisierende Keim spaltet Sorbit, nicht aber Trehalose. Der Nachweis gelingt durch Präzipitation mit Serum der Gruppe C. DIERNHOFER (1950) konnte ihn in 30 Fällen bei Mastitiden isolieren. SEELEMANN (1954) fand ihn wiederholt in Kuhmilch, ohne daß bei den entsprechenden Tieren ein Mastitis vorlag.

Sc.dysgalactiae, der vierte Keim aus der serologischen Gruppe C wurde in Kapitel 2.2.2. abgehandelt.

Streptokokken der serologischen Gruppe L sind hämolysierende Keime. Sie werden gelegentlich in Milch gefunden. Die Keime werden besonders in Dänemark aus Milch isoliert (ERNST, 1942; LIVONI, 1953; ROMER, 1953).

Streptokokken der Gruppe N (Sc.lactis und Sc.cremoris) werden als Milchsäurestreptokokken bezeichnet. Sie haben in der Lebensmitteltechnologie, besonders der Milchwirtschaft als Starterkulturen und Säurewecker ihre wichtigste Verwendung. Mit Sicherheit wurden sie in einigen Fällen in Kuheutern nachgewiesen (DIERNHOFER, 1932; SEELEMANN, 1954).

2.3. Die Streptokokken-Mastitis

2.3.1. Vorkommen und Bedeutung

Streptokokkeninfektionen der Milchdrüse sind weltweit verbreitet. Es sind subklinische und klinische Erkrankungen, auch latente Infektionen des Euters, die von verschiedenen serologischen Gruppen der Gattung *Streptococcus* verursacht werden.

Nach SEELEMANN (1954) zählt *Sc.agalactiae* nach wie vor zu den am häufigsten nachgewiesenen Mastitiserregern. In den letzten Jahren waren in der BRD noch 6-20% der Herden mit dem Erreger des Gelben Galts verseucht. LITTLE und PLASTRIDGE (1946) untersuchten in den USA 332 Herden und 447 Bestände: In 86 bzw. 90% aller Herden stellten sie Streptokokken fest. Durchschnittlich 26% bzw. 35% aller Milchkühe waren Keimträger.

Mastitiden durch Streptokokken anderer Serogruppen sind unterschiedlich häufig anzutreffen. Die Verbreitung dieser Keime hängt wesentlich vom Vorkommen des *Sc.agalactiae* und von lokalen Verhältnissen ab. In dem Umfang, wie die Galtverseuchung durch den massiven Einsatz von Penicillinen sank, drangen die übrigen Mastitiserreger in zum Teil erheblichem Umfang in die entstandene Lücke ein.

2.3.2. Ätiologie und Pathogenese

Mastitiserreger können nach HEIDRICH und RENK (1963) auf drei Wegen ins Euter gelangen:

- a) galaktogene Infektion: Erreger über Zitzenöffnung in Strichkanal
- b) Wundinfektion: über defekte Stellen der Zitzen und Euterhaut
- c) hämatogene Infektion: Erreger gelangt von einem anderen Infektionsherd über das Blut ins Euter

Bei Streptokokken wird nur die galaktogene Infektion diskutiert, während lymphogene und hämatogene Weiterleitung als ausgeschlossen gelten

(SEELEMAN, 1954; WENDT et al., 1986).

Ohne Erfolg wurden mehrere Versuche angestellt, Euterinfektionen durch Verfütterung oder s.c. bzw. i.v. Injektionen von Galterregern auszulösen.

Ebenso schlugen Versuche fehl, mit Streptokokken-infizierten Händen oder Melkbechern eine Infektion zum Haften zu bringen. Dagegen konnten bei mehreren Versuchen Streptokokken in der Milchdrüse angesiedelt werden, die auch zu einer Euterentzündung führten, wenn das Kulturmateriale direkt in den Strichkanal eingeführt wurde.

Jedoch nicht jede Infektion muß auch zu einer Mastitis führen. Zum Haften einer Infektion bedarf es meist noch eines prädisponierenden Faktors (SEELEMAN, 1954).

Prädisponierende Faktoren sind nach HEIDRICH und RENK (1963) sowie WENDT et al.(1986):

a) morphologische Eigenschaften des Euters und der Zitzen:

Pendeleuter, Hänge- oder Stufeneuter sind einer höheren Verletzungsgefahr ausgesetzt

b) ungünstige Umweltbedingungen:

Zu enge Aufstallung provoziert häufigere traumatische Einflüsse auf Euter und Zitzen. Zu lange liegende Einstreu begünstigt die Anreicherung pathogener Keime.

c) Fehlfunktionen der Melkanlage:

Fehlverhalten beim eigentlichen Melken (Mißachtung der Hygiene, Blindmelken, ungenügendes Ausmelken)

2.3.3. Klinisches Bild und Verlauf

In der Regel verlaufen Streptokokkenmastitiden chronisch oder latent. Die akute Entzündung ist die Ausnahme. Die akute Mastitis führt meist zu keiner Störung des Allgemeinbefindens des Rindes. Es sind nur lokale Symptome am Euter feststellbar, wie Schwellung, Rötung, etwas erhöhte Temperatur und z.T. Ödeme der distalen Euterteile.

Das befallene Viertel hat derbe Konsistenz. Die Milchleistung ist reduziert. Die Milch ist wässrig und enthält große Mengen an Casein- und Eiterflocken. Das Sekret bleibt aber milchähnlich.

Latente Infektionen sind weder klinisch manifest, noch lassen sich Veränderungen des Sekrets feststellen.

Bei einem chronischen Infektionsverlauf bemerkt man als erstes Anzeichen Eiterflocken in der Milch, besonders im Anfangsgemelk. Später gesellen sich weitere Veränderungen dazu, v.a. eine verringerte Milchleistung, Zunahme der Eiterflocken und ein wässriges Aussehen des Sekrets. Im späteren Stadium gewinnt das Sekret ein molkeartiges Aussehen. Gleichzeitig kann man palpatorisch eine derbe Konsistenz des Euters feststellen, bzw. mehr oder weniger herdförmig oder diffus harte Eutervierteile.

Die Streptokokkenmastitis verläuft unterschiedlich, je nach Resistenzlage des Tieres und Virulenz des Erregers. Die Streptokokken können bei starker Abwehrreaktion eliminiert werden. Meist wird aber der Krankheitsprozeß chronisch. Die akute Streptokokkenmastitis kann nach Therapie ausheilen, wird aber häufig auch chronisch.

Durch Streptokokkenmastitiden werden meist große Teile des milchbildenden Gewebes vernichtet. Dieses Gewebe regeneriert auch nach erfolgreicher Behandlung nicht (HEIDRICH und RENK, 1963; WENDT et.al.1986).

2.3.4. Pathomorphologie

Die chronisch katarrhalische Mastitis hat überwiegend den Charakter einer proliferierenden Entzündung. Das Milchgewebe wird in Mitleiden-schaft gezogen. Dieses Gewebe atrophiert und/oder wird bindegewebig umgestaltet. Das Resultat sind Atrophie und Induration des betroffenen Euterviertels.

Die akut katarrhalische Mastitis hat vor allem den Charakter einer ex-sudativ-eitrigen Entzündung. Das betroffene Viertel erscheint deutlich vergrößert. In Zisterne und Milchgängen findet man gelben oder bräun-lichen Eiter. Die Alveolen sind gefüllt mit Eiweißgerinnseln und des-quamierten Epithelien. Die Septen sind hyperämisch. Das interalveoläre Gewebe ist verstärkt und weist reichlich Zellinfiltrate auf (HEIDRICH und RENK, 1963; WENDT et al., 1986).

2.3.5. Therapie

In früheren Zeiten bestand die einzige therapeutische Maßnahme bei Ma-stitiden in häufigem Ausmelken und der äußeren Anwendung von Salben und Umschlägen.

Seit 1923 kennt man die intrazisternale Behandlung vor allem mit Akri-dinfarbstoffen. Mit der Entdeckung der Sulfonamide und Antibiotika er-folgte ein grundlegender Wandel in der Mastitistherapie. Seit 1944 steht Penicillin (anfangs Penicillin G, dann Procain-Penicillin) zur Verfügung.

Seither gibt es eine sprunghafte Weiterentwicklung von Breitband-Anti-biotika und Kombinationspräparaten (zit. nach KIELWEIN und HARR, 1965). Eine parenterale Behandlung ist nur bei der akuten Mastitis geboten, da hier eine höhere Durchlässigkeit der Blut-Euter-Schranke gegeben ist (BLOBEL, 1980).

Die Anwendung von Kombinationspräparaten ist nur dann sinnvoll, wenn neben der potentiellen Wirkung der Komponenten die Einzelkomponenten in so hoher Konzentration vorliegen, daß auch eine selektive Wirkung ge-währleistet ist. (KIELWEIN und HARR, 1965).

Wichtig ist die Unterscheidung der Therapie während der Laktation und in der Ruhephase:

Bei der akuten Mastitis ist die sofortige Therapie angezeigt. Subklinische Mastitiden behandelt man am besten zu Beginn der Laktationsruhe. Der Vorteil ist hier, daß eine höhere Dosierung des Antibiotikums möglich, kein Ausmelken nötig und eine längere Verweildauer des Antibiotikums gegeben ist. Gleichzeitig beugt dies einer Neuinfektion in den ersten Wochen der Laktation vor. Hierfür wurden spezielle Langzeitpräparate entwickelt, welche die Aufrechterhaltung eines wirksamen Antibiotikaspiegels über mehrere Wochen gewährleisten.

Eine Chemotherapie ist aber nur dann sinnvoll, wenn gleichzeitig notwendige hygienische Maßnahmen ergriffen werden.

Bei bestandsweise auftretenden chronischen Mastitiden empfiehlt sich vor dem Ergreifen therapeutischer Maßnahmen eine bakteriologische Untersuchung aller Euter mit Resistenztest. Nur so ist die Auswahl des richtigen Antibiotikums ermöglicht (BLOBEL, 1980; WALSER et al., 1973).

2.4. Chemotherapeutika

2.4.1. Cephacetril

2.4.1.1. Allgemeines

Die Anzahl der Cephalosporine für den klinischen Gebrauch ist in den vergangenen Jahren stark angewachsen (KNOTHE und DETTE, 1983). Cephalosporine gehören wie die Penicilline zu den β -Lactam-Antibiotika. Schon 1945 wurde aus dem Pilz *Cephalosporium acremonium* erstmals ein Cephalosporin isoliert. Dieses natürliche Cephalosporin hat nur eine schwache antibiotische Wirkung und besitzt deshalb keine therapeutische Bedeutung (KUSCHINSKY und LÜLLMANN, 1984). 1961 gelang die Aufklärung der chemischen Struktur sowie die Darstellung des Grundkörpers. Das Grundgerüst der Cephalosporine ist die 7-Aminocephalosporansäure. Sie dient seither als Ausgangsprodukt für verschiedene halbsynthetische Präparate, von denen viele in die Klinik Eingang gefunden haben (z.B. Cephalothin, Cephaloriden, Cephazolin). Seit Anfang der 70er Jahre folgten zahlreiche neue Vertreter dieser Antibiotika. Cephacetril wurde 1970 von Ciba/Geigy entwickelt (KRADOLFER et al., 1974; WALTER und HEILMEYER, 1975).

Mit den β -Laktam-Antibiotika ist das Bestreben erfüllt worden, daß ein Chemotherapeutikum den Erreger treffen soll, ohne die Wirtszellen zu schädigen.

Der wesentliche Vorteil der Cephalosporine besteht darin, daß sich oft keine gekreuzten Resistenzen mit den Penicillinen bilden. Cephalosporine lassen sich also auch gegen viele penicillinresistente Keime erfolgreich anwenden. Gleiches gilt für Patienten mit Penicillinüberempfindlichkeit (KRADOLFER et al., 1974).

Dieser Vorteil beruht im wesentlichen auf einer gesteigerten β -Laktamase - Stabilität, die das Wirkungsspektrum der Cephalosporine gegenüber den Penicillinen erweitert. Die Cephalosporine sind mittlerweile aus dem Schatten der Penicilline herausgetreten. 1982 waren bereits 18 verschiedene Cephalosporine auf dem Markt (FORTH et al., 1983).

2.4.1.2. Chemie

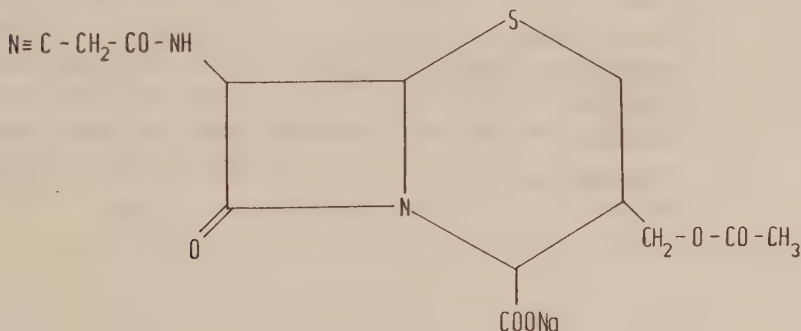
Cephacetril ist das 7 - Cyan - acetamido - Derivat der 7 - Aminocephalosporansäure.

Sein chemischer Name lautet: 3 - Acetoxymethyl - 7 - (- 2 - cyanacetamido) - 8 - oxo - 5 - thia - 1 - azabicyclo [4.2.0.] - oct - 2 - en - 2 - carbonsäure, Natriumsalz.

Sein Molekulargewicht beträgt 361,31.

Die Summenformel lautet $C_{12} H_{12} N_3 NaO_6 S$.

Strukturformel:



Cephacetril hat einen hydrophilen Charakter, d.h. es ist bei pH-Werten ≥ 3 zu mehr als 10% wasserlöslich. Im pH-Bereich 7,5 ist Cephacetril stabiler als bei höheren alkalischen Werten. Am stabilsten ist das Chemotherapeutikum bei niedrigen Temperaturen und pH 5,5 (WALTER und HEILMEYER, 1975).

2.4.1.3. Antibakterielle Wirksamkeit

Cephacetril zeigt das Cephalosporin-typische, breite Wirkungsspektrum (s. Tab.1). Seine bakterielle Wirksamkeitsgrenze liegt bei 15 $\mu\text{g/ml}$

Tab.1: Empfindlichkeitsrate wichtiger Keimspezies gegenüber Cephacetril (WALTER und HEILMEYER, 1975):

Keimspezies	% empfindliche Stämme bei 15 $\mu\text{g/ml}$
Diplococcus pneumoniae	100
Streptokokken	100
Enterokokken	78
Staph.aureus (penicillinase-neg.)	90
Staph.aureus (penicillinase-pos.)	60
Neisseria meningitidis	100
Haemophilus influenzae	50
E.coli	62
Bacterium proteus mirabilis	65
Indol-positive Proteus-Spezies	5
Klebsiella	68
Aerobacter	5
Pseudomonas aeruginosa	0
Shigella	62

Empfindlich gegenüber Cephacetril sind Meningokokken, Pneumokokken, *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus aureus* (incl. penicillinresistenten Stämmen), Enterokokken, Salmonellen, Klebsiellen, *Proteus mirabilis*, Shigellen und *E.coli*. Ein Teil der Stämme von *Haemophilus influenzae*, *Citrobacter* und *Acinetobacter* sind ebenfalls empfindlich. *Serratia*, indol-positive *Proteus*, *Enterobacter*, Moraxellen, *Providencia* und *Pseudomonas* sind dagegen gegen Cephacetril unempfindlich (KRADOLFER et al., 1974).

Die MHK von Cephacetril liegt zwischen 0,1 und 0,4 µg/ml für empfindliche grampositive Stämme und zwischen 3 und 15 µg/ml für gramnegative Stämme (KNÜSEL et al., 1974).

Mit seinem Wirkungsspektrum erfaßt Cephacetril also auch die in der Mastitisätiologie v.a. wichtigen Staphylokokken und Streptokokken, aber auch gramnegative Keime. Besonders zu erwähnen ist seine gute Aktivität gegenüber β -Laktamase - produzierenden Staphylokokken (SCHLUEP und HEIM, 1980).

ZIV und NOUWS (1977) untersuchten die in-vitro-Aktivität von Cephacetril gegenüber bovinen euterpathogenen Keimen und anderen pathogenen Keimen.

Cephacetril-Konzentrationen $\leq 4,0$ µg/ml hemmten das Wachstum von 75% der getesteten *E.coli*-Stämme.

Cephacetril zeigte sich gleichermaßen aktiv gegenüber Benzylpenicillin-resistenten und Benzylpenicillin-sensiblen *Staphylococcus aureus*-Stämmen.

Das Chemotherapeutikum war ebenfalls gegenüber allen getesteten grampositiven Isolaten mit MHK-Werten $\leq 2,0$ µg/ml aktiv. *Pseudomonas aeruginosa* ist allerdings zu 100% resistent gegenüber Cephacetril (ZIV und NOUWS, 1977).

GEDEK (1985) untersuchte die in-vitro-Wirksamkeit von Cephacetril gegenüber 210 Streptokokken-, 224 *Staphylococcus aureus*- und 200 coli-formen Isolaten aus subklinischen und klinischen Mastitiden. Er ermittelte dabei folgende MHK-Werte (Tab.2):

Tab. 2: In-vitro-Wirksamkeit von Cephacetril

Mastitiserg. Isolate(n)		MHK-Var.breite	Modalwert	MHK-Grenzw.	Res.quote%
Streptok.	210	≤ 0,06-16	0,25	>16	0
Staph.aureus	224	0,125-2	0,5	>16	0
Coliforme	200	4 - >64	8	>16	8,5

Dabei ließen sich keine Resistenzen von Streptokokken und Staphylokokken gegenüber Cephacetril feststellen. 8,5% der coliformen bildeten allerdings eine Resistenz aus. Eine Weiterdifferenzierung der Streptokokken in vier routinemäßig erfaßbare Gruppen erbrachte deutliche Unterschiede in der Empfindlichkeit pro Gruppe (s.Tab. 3). Die Streptokokken zeigten eine hohe Empfindlichkeit gegenüber Cephalosporinen mit Ausnahme eines Teils der Äskulinspalter.

Tab. 3: MHK-Werte der Streptokokkengruppen (GEDEK, 1985)

Sc.Gruppe	Isolate(n)	Prozentsatz der Isol. mit MHK-Werten von µg/ml										
		≤ 0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
S.agalactiae	71	7,0	16,9	21,1	50,7	4,2	-	-	-	-	-	-
β-hämolysierende												
Sc. (außer S.agalactiae)	22	4,5	40,9	54,5	-	-	-	-	-	-	-	-
äskulinneg.Sc.	45	13,3	46,7	33,3	6,7	-	-	-	-	-	-	-
äskulinpos.Sc.	72	1,4	23,6	29,2	12,5	-	-	1,4	12,5	19,4		

2.4.1.4. Wirkungsweise

Die antibiotische Wirkungsweise der Cephalosporine gleicht der der Penicilline (KUSCHINSKY und LÜLLMANN, 1984).

Cephalosporine hemmen die Mureinsynthese der Bakterien (FORTH et al., 1983). Ein bedeutender Schritt in der Synthese der Bakterienzellwand ist das Peptidoglycan-Netzwerk. Der β -Laktam-Ring der Cephalosporine bindet das Transpeptidase-Enzym, das für den letzten Schritt der Mucopeptid-Synthese notwendig ist. Damit wird die Ausbildung von Quervernetzungen im Makromolekül gestört und der Aufbau der Bakterienzellwand behindert (KRADOLFER et al., 1974; PAPICH, 1984).

2.4.1.5. Pharmakokinetik

2.4.1.5.1. Resorption

Cephacetril wird nur parenteral verabreicht, da das Chemotherapeutikum oral nur unzureichend oder überhaupt nicht resorbiert wird. Nach i.m. Applikation wird Cephacetril vollständig resorbiert (MAURICE et al., 1974; PAPICH, 1984).

Bei einem Vergleich der Resorptionsgeschwindigkeit bei i.v. und i.m. Applikation stellten DVORACEK et al. (1974) fest, daß die Serumkonzentration von Cephacetril nach i.v. Gabe bis 40 Minuten p.appl. bedeutend höher ist als nach i.m. Gabe. Dieser Unterschied egalisiert sich aber bald.

MAURICE et al. (1974) fanden heraus, daß nach i.m. Gabe von Cephacetril schon nach 15 Minuten bakterizide Serumkonzentrationen erreicht werden. Binnen 30-60 Minuten wird das Konzentrationsmaximum erreicht.

Sowohl nach i.m. als auch nach i.v. Gabe stellt sich das Diffusionsgleichgewicht zwischen wäßrigem extravasalem Raum und dem zirkulierenden Blutserum 1,5 - 2 Stunden nach Applikation ein.

Tab. 4: Mittlere Konzentration von Cephacetril im Serum nach i.v. bzw. i.m. Applikation von je 1g Wirksubstanz (MAURICE et al., 1974).

Zeit	mittlere Konzentration im Serum (µg/ml)	
	i.v.	i.m.
0	0	
15 min.	56,2 ± 8,3	
30 min.	36,6 ± 4,4	
1 Std.	19,3 ± 2,8	14,5 ± 1,7
2 Std.	8,5 ± 1,0	11,0 ± 1,0
3 Std.	5,1 ± 0,9	6,8 ± 1,0
4 Std.	2,2 ± 0,4	4,3 ± 0,8
5 Std.	1,6 ± 0,3	2,2 ± 0,5
6 Std.	0,9 ± 0,2	1,3 ± 0,4
7 Std.		0,7 ± 0,2
8 Std.		0,3

ZIV und Mitarbeiter (1977) untersuchten die Pharmakokinetik von Cephacetril beim Wiederkäuer mit klinischer und subklinischer Mastitis: Nach i.v. Injektion betrug die biologische Halbwertszeit ca. 1 Stunde. Nach i.m. Injektion erfolgte eine rasche, beinahe vollständige Resorption des Chemotherapeutikums.

Die Konzentration von Cephacetril in der Milch mastitiskranker Euter- viertel entsprach der der Serumkonzentration.

Das Verteilungsgleichgewicht war ca. 1 Stunde p.inj. erreicht. Die Ergebnisse zeigt Abb. 1.

($\mu\text{g/ml}$)

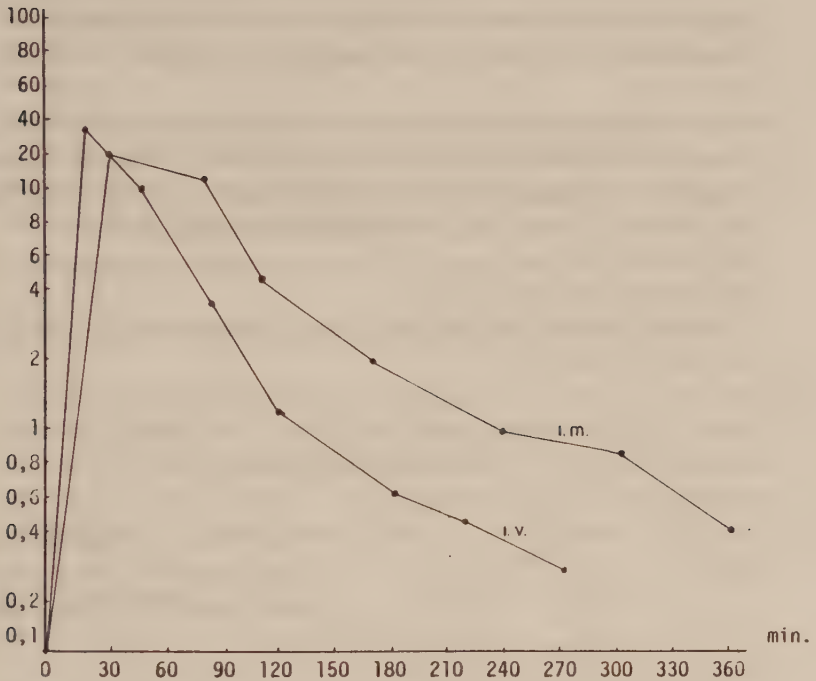


Abb.1: Serumkonzentration von Cephacetril bei Kühen nach i.m. und i.v. Injektion von je 8,5 mg/kg (ZIV et al., 1977)

2.4.1.5.2. Verteilung

Cephacetril erreicht die meisten Organe und Gewebe. Es penetriert gut in Knochen und Gewebe sowie die Perikard- und Pleurahöhle. Das Chemotherapeutikum passiert leicht die Plazentarschranke, kaum aber die Blut-Hirn-Schranke (FORTH et al., 1983; PAPICH, 1984). Wirksame Konzentrationen werden erreicht im Knochen (nach 1,5 - 3 Stunden), in der Prostata (nach 1,5 - 2,5 Stunden), im Nabelschnurblut (nach 2-3 Stunden), im Fruchtwasser (nach 4-5 Stunden), in der Galle (nach 1-3

Stunden), im Blut (nach 15 Min.), und im Urin (nach 45 Min.) (MAURICE et al., 1974; WALTER und HEILMEYER, 1975). SCHLUEP und Mitarbeiter (1980) untersuchten die Milchausscheidungskinetik von Cephacetril nach intramammärer Applikation zu verschiedenen Zeitpunkten in der Zwischenmelkzeit:

Weder Medikation in der Zwischenmelkzeit noch häufiges Ausmelken haben negative Auswirkungen auf den Spiegelverlauf und den Behandlungserfolg. Cephacetril diffundiert rasch in das Eutergewebe, und es bildet sich ein Konzentrationsgleichgewicht zwischen Gewebe und Milch.

Die mittlere MHK von Cephacetril stellt sich gegen Staphylokokken und Streptokokken um 0,4 mg/ml ein.

Es werden durchwegs Milchspiegel gemessen, die über oder im Bereich der MHK lagen (s.Abb. 2).

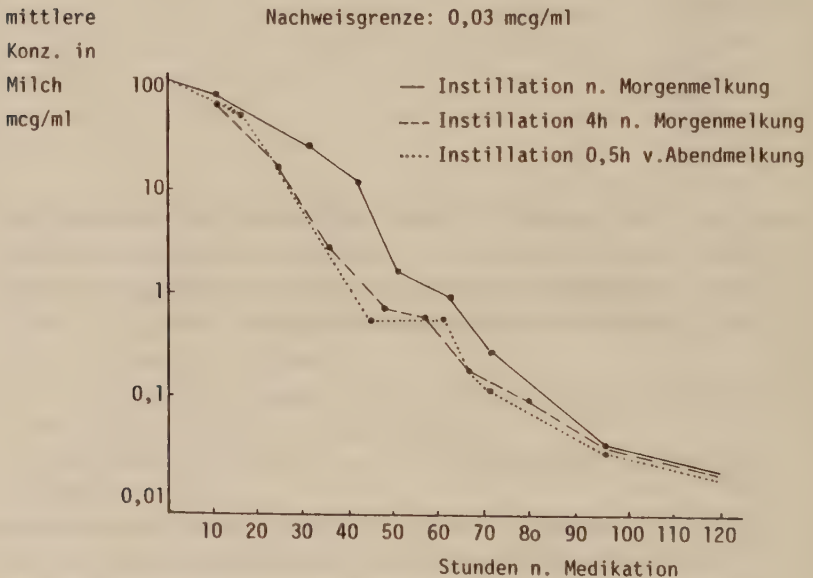


Abb.2: Graphische Darstellung der Eliminationskinetik von Cephacetril (SCHLUEP und HEIM, 1980)

Die Konzentrationen im Bereich der methodischen Nachweisgrenze wurden nach 86-96 Stunden erreicht.

Die Kurven laufen in nur geringem Abstand parallel. Der Behandlungszeitpunkt hat also nur einen geringen Einfluß auf das Ausscheidungsverhalten.

Obwohl die Verabreichung von Cephacetril zu verschiedenen Zeitpunkten erfolgte, fanden sich hinsichtlich des Konzentrationsverlaufs von intramammär verabreichtem Chemotherapeutikum nur geringe oder keine Unterschiede (SCHLUEP und HEIM, 1980).

2.4.1.5.3. Ausscheidung

Die Ausscheidung von Cephacetril erfolgt in erster Linie über die Nieren in biologisch aktiver Form. Das Chemotherapeutikum wird sowohl glomerulär filtriert als auch tubulär sezerniert. 97,3% einer Dosis nach i.v. Gabe und 94,8% nach i.m. Gabe werden über den Harn ausgeschieden (DVORACEK et al., 1974; PAPICH, 1984).

% ausgeschieden
im Urin

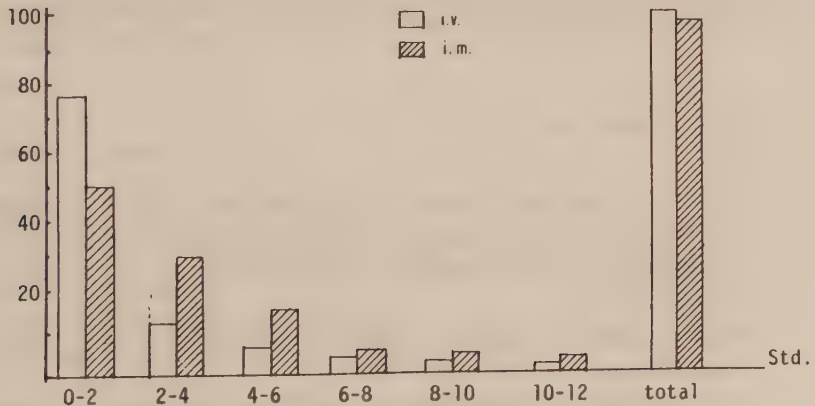


Abb.3: Durchschnittliche Konzentration von Cephacetril im Urin (in $\mu\text{g/ml}$) nach i.v. und i.m. Gabe von 1g (DVORACEK et al., 1974)

Binnen 12 Stunden nach i.m. Applikation von Cephacetril sind 95% mit dem Urin eliminiert, davon 3/4 in unveränderter, mikrobiologisch aktiver Form, 1/4 als Metaboliten.

2.4.1.6. Nebenwirkungen

Cephacetril hat im allgemeinen eine niedrige Toxizität. Die akute LD₅₀ bei i.v. Applikation bei der Maus beträgt >3,7 mg/kg (SCHLUEP et al., 1979).

An Nebenwirkungen werden beschrieben:

- allergische Hautreaktionen (Pruritus, Urtikaria) in 1-4%
- Injektionsschmerz bei i.m. und Thrombophlebitiden bei i.v. Gabe
- gelegentlich reversible Leuko- und Thrombozytopenien.

Das Chemotherapeutikum hat keine nephrotoxischen Eigenschaften. Insgesamt kann man von einer sehr guten Verträglichkeit des Präparates sprechen, da Nebenwirkungen nur gelegentlich und vorübergehend auftreten (MAURICE et al., 1974; WALTER und HEILMEYER, 1975).

In 5-10% der Fälle bilden sich Kreuzallergien mit Penicillinen (KUSCHINSKY und LÜLLMANN, 1984).

2.4.1.7. Resistenzen

Resistenzen gegenüber Cephacetril entstehen durch die β -Laktamase (Cephalosporinase), die durch die Bakterien produziert wird. β -Laktamasen sind Enzyme, welche den β -Laktamring der Cephalosporine hydrolysieren.

Sowohl grampositive wie auch gramnegative Bakterien können β -Laktamase bilden.

Im allgemeinen sind Cephalosporine aber stabil gegenüber β -Laktamase von grampositiven Bakterien, auch von Staphylococcus aureus (PAPICH, 1984).

KRADOLFER et al. (1974) stellten in ihren Untersuchungen eine positive

bakteriologische Wirkung von Cephacetril in 72% der Fälle von Infektionen mit grampositiven Kokken fest. Von 79 sensiblen Stämmen der grampositiven Erreger konnten 57 eliminiert werden.

Bei gramnegativen Erregern incl. *Haemophilus influenzae* wurden dagegen nur 21 von 45 Stämmen ($\hat{=}$ 45%) eliminiert.

GEDEK (1985) untersuchte die Wirkung von Cephacetril gegenüber Streptokokken (210 Stämme), *Staphylococcus aureus* (224 Stämme) und Coliformen (200 Stämme).

Nur bei den Coliformen bildeten sich in 8,5% der Fälle Resistenzen.

2.4.2. BAY VP 2674

2.4.2.1. Allgemeines

BAY VP 2674 ist ein neues Chemotherapeutikum mit antibakterieller Aktivität

Es zählt zur Gruppe der Chinolincarbonsäure-Derivate. Das Chemotherapeutikum wurde erstmals 1983 in den Forschungslaboratorien der Firma Bayer synthetisiert. BAY VP 2674 wurde zum Gebrauch bei Tieren entwickelt (SCHEER et al., 1986).

Es ist wirksam gegen ein breites Spektrum gramnegativer und grampositiver Bakterien sowie gegen Mykoplasmen. Bis heute sind keine Resistenzen bekannt (MOSER, 1985).

2.4.2.2. Chemie

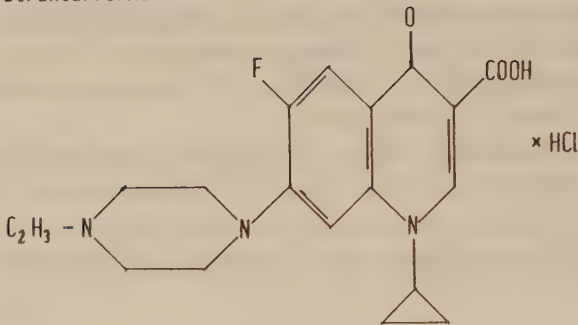
Chemisch ist BAY VP 2674 eine

1-Cyclopropyl-7-(4-ethyl-1-piperazinyl)-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-3-chinolincarbonsäure.

Das Molekulargewicht beträgt 395,5.

Die Summenformel lautet $C_{19} H_{22} FN_3 O_3 \times HCl$.

Strukturformel:



(SCHEER, 1986)

BAY VP 2674 liegt als kristallines Pulver vor. Es ist leicht wasserlöslich und hitzestabil, aber schwach lichtempfindlich. Darauf ist bei Aufbewahrung und Verarbeitung von Lösungen im Labor zu achten.

2.4.2.3. Antibakterielle Wirksamkeit

BAY VP 2674 wirkt besonders intensiv gegen alle wichtigen gramnegativen Bakterien (E.coli, Salmonella, Enterobacter, Proteus, Klebsiella, Haemophilus, Pasteurella, Pseudomonas).

Auch gegenüber grampositiven Bakterien (Staphylokokken, Streptokokken, Enterokokken) besitzt das Präparat eine gute Wirkung. Als besonderer Vorteil ist seine hohe Wirksamkeit gegenüber Mycoplasmen zu nennen. Die Substanz läßt sich auch mit Erfolg gegen Bakterien einsetzen, die gegen andere Antibiotika (z.B. Gentamicin, Tetracyclin, Chloramphenicol, Ampicillin) resistent sind (s.Tab. 6)

(SCHEER, 1986).

Tab.5: MHK-Werte (in µg/ml) von BAY VP 2674 gegenüber einigen wichtigen pathogenen Bakterienstämmen (SCHEER et al., 1986)

Spezies	n	MHK in µg/ml	Medianwert
<i>E.coli</i>	178	< 0,01 - 0,5	0,06
<i>Klebsiella</i> spp.	48	< 0,03 - 0,5	0,06
<i>Salmonella</i> spp.	115	0,003 - 0,5	0,03
<i>Proteus</i> spp.	30	0,03 - 0,025	0,12
<i>Pasteurella</i> spp.	78	< 0,001 - 0,12	0,008
<i>Campylobacter</i> spp.	31	0,03 - 0,25	0,25
<i>Haemophilus</i> spp.	23	0,02 - 0,5	0,02
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41	0,25 - 2,0	0,75
<i>Mycoplasma</i> spp.	69	0,01 - 1,0	0,25
<i>Staph. aureus</i>	135	0,03 - 1,0	0,25
<i>Staph. hyicus</i>	12	0,01 - 0,4	0,12
<i>Streptococcus</i> spp.	61	0,06 - 4,0	0,75
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	29	0,06 - 4,0	0,75
<i>Erysipelothrix</i> spp.	3	0,06 - 0,1	0,06
<i>Clostridium perfringens</i>	28	0,2 - 4,0	0,5

2.4.2.4. Wirkungsweise

BAY VP 2674 hat einen besonderen Wirkmechanismus:

Die Chinoloncarbonsäure - Derivate hemmen die bakterielle Gyrase. Dieses Enzym wird bei der Replikation der DNS der Bakterien benötigt (SCHEER, 1986).

Die Enzymhemmung bewirkt - abhängig von der Dosis - bei proliferierenden Bakterien eine Keimeliminierung. BAY VP 2674 ist damit ein bakterizides Chemotherapeutikum (SCHEER und BAUDITZ, 1986).

Keim	Gentamicin	Tetracyclin	Chloramphenicol	Ampicillin	BAY VP 2674
<i>Salm. dublin</i> , 1198	8,0	-	128	16	0,06
<i>Salm. spp.</i> , 1070	8,0	128	128	-	0,015
<i>E.coli</i> , 3856	-	128	128	>128	0,015
<i>E.coli</i> , 373	-	-	32	>128	0,06
<i>E.coli</i> , 3372	-	128	>128	>128	0,03
<i>Klebsiella pneum.</i> , 1004	4,0	>128	>128	-	0,06
<i>Staph. aureus</i> , 15167	-	32	64	-	0,12
<i>Staph. aureus</i> , 15104	-	128	128	-	0,12
<i>Strept. faecalis</i>	-	-	128	-	0,25

Tab.6: BAY VP 2674: MHK-Werte bei multiresistenten Stämmen (SCHEER, 1986)

2.4.2.5. Pharmakokinetik

2.4.2.5.1. Resorption

BAY VP 2674 wird sowohl nach oraler als auch nach parenteraler Verabreichung gut resorbiert (SCHEER, 1986).

Maximale Wirkstoffspiegel werden beim Kalb nach i.m. oder s.c. Injektion nach 1-2 Stunden erreicht. Therapeutisch ausreichende Wirkstoffkonzentrationen bleiben im Serum bis 24 Stunden bestehen (s.Tab.7) (SCHEER und BAUDITZ, 1986).

Tab. 7: Wirkstoffkonzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im Serum beim Kalb (SCHEER und BAUDITZ, 1986)

Applikation	n	0,5	1	2	4	6	24 Stunden
i.v.	6	1,8	1,5	1,1	0,8	0,6	0,06
i.m.	3	-	1,2	1,4	1,1	1,1	0,3
s.c.	6	-	1,3	1,4	1,1	0,9	0,2
oral	6	-	0,9	0,9	1,0	1,1	0,4

Die parenterale Gabe führt zu einer etwas höheren Serumkonzentration als die orale Applikation.

$\mu\text{g/ml}$

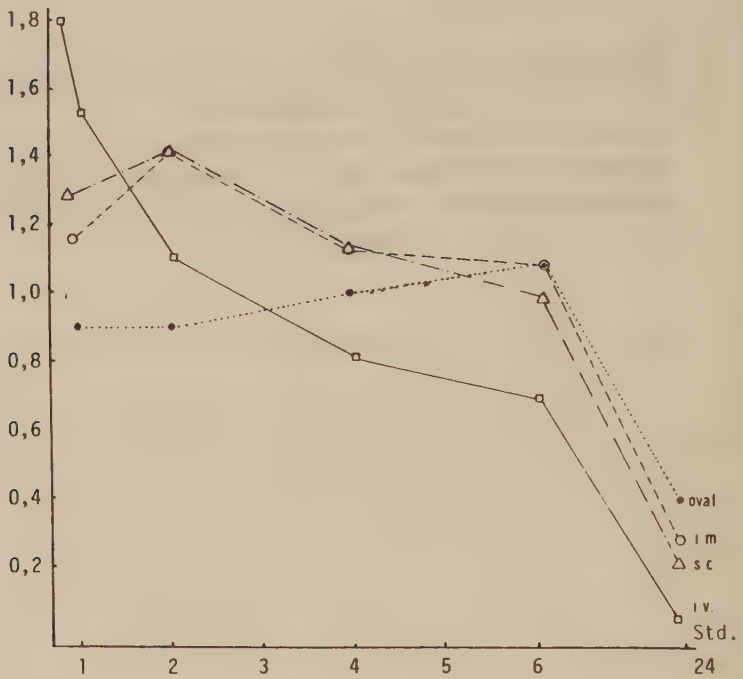


Abb.4: Serumkinetik nach oraler, s.c., i.m. und i.v. Applikation beim Kalb (SCHEER und BAUDITZ, 1986)

Sowohl das Lebensalter als auch die Applikationsart des Arzneimittels bestimmen die Wirkstoffkonzentration im Blutserum des Kalbes.

Bei i.v. Gabe liegt die Konzentration des Medikaments im Serum post appl. deutlich höher als bei den anderen Verabreichungsarten, sie sinkt aber auch schneller wieder ab. Der maximale Serumspiegel nach s.c. Gabe wird nach 1-2 Stunden erreicht.

2.4.2.5.2. Verteilung

BAY VP 2674 zeigt eine hohe Affinität zu bestimmten Geweben. In Gewebs-homogenaten - speziell von Lunge, Leber und Niere - werden 2-3 fach höhere Konzentrationen als im Serum erreicht (s.Tab. 8.)

Tab. 8: Verteilung von BAY VP 2674 in verschiedenen Geweben nach ein-maliger Injektion von 2,5 mg/kg beim Kalb (SCHEER und BAUDITZ, 1986)

	1 Std.	4 Std.	12 Std.
Serum	0,9	0,7	0,08
Urin	7,1	40,6	8,8
Galle	15,9	6,9	2,4
Lunge	1,4	0,9	0,1
Herz	1,9	0,9	0,1
Leber	3,4	3,1	0,4
Milz	1,1	0,8	0,1
Lymphknoten	1,0	0,7	0,1
Niere	3,2	2,4	0,4
Muskulatur	0,8	0,8	0,1
Haut	0,5	0,5	0,1
Fettgewebe	0,6	0,3	0,1
Knochen	0,3	0,3	0,1
Gehirn	0,3	0,2	0,1
Darm	1,1	0,8	0,1
Ovar/Hoden	0,6	0,7	0,1
Uterus	0,6	0,6	0,1

Tab. 9: Höchstkonzentrationen 1 Stunde post appl. im Serum und in Organen ($\mu\text{g/ml}$) nach einmaliger i.m. Injektion von 2,5 mg/kg beim Ferkel (SCHEER et al., 1986).

2,7	Lunge
2,6	Niere
2,2	Mandeln
2,0	Nasenschleimhaut, Muskulatur
1,9	Herz, Knochen
1,8	Milz
1,7	Ovar, Leber
1,6	Hoden
1,4	Uterus
1,2	Knorpel des Nasenseptums
1,1	Haut, Gehirn, Fettgewebe
0,8	Serum

2.4.2.5.3. Ausscheidung

BAY VP 2674 wird überwiegend über die Galle und in unveränderter Form mit den Fäzes ausgeschieden.

RADEMACHER (1985) führte seine Untersuchungen des Ausscheidungsverhaltens an der Ratte mit Hilfe von ^{14}C - markierten Verbindungen durch. Das Medikament wurde zum großen Teil unverändert binnen 24 Stunden ausgeschieden, und zwar 1/4 über die Harnwege und 3/4 über die Fäzes.

2.4.2.6. Nebenwirkungen

Bislang waren keine lokalen oder allgemeinen Unverträglichkeitsreaktionen feststellbar.

Es gibt ebenfalls keine Anzeichen für eine Kumulation des Medikaments im Tierkörper (SINDERN, 1985).

Nach einer 14-tägigen Medikation mit 30 mg/kg bei Jungschweinen ließen sich keine klinischen, klinisch-chemischen oder pathomorphologischen Veränderungen feststellen (MOSER, 1985).

2.4.3. Gentamicin

2.4.3.1. Allgemeines

Gentamicin ist ein Breitspektrum-Antibiotikum.

Es zählt zur Gruppe der Aminoglykosid-Antibiotika wie Neomycin, Kanamycin und Streptomycin, mit denen es eine Reihe pharmakokinetischer und toxikologischer Gemeinsamkeiten hat (NEDDEN et al., 1972).

Gentamicin wurde 1963 erstmals aus Fermentationsansätzen von zwei Mikromonosporarten (*Micromonospora purpurea* und *Micromonospora echinospora*) von WEINSTEIN isoliert und rein dargestellt (HEPDING und WAHLIG, 1966).

2.4.3.2. Chemie

Gentamicin ist ein basisches Oligosaccharid mit einem Molekulargewicht von 425 ± 21 (NEDDEN et al., 1972).

Die Summenformel lautet $C_{17-18} H_{34-36} N_4 O_7$.

Zur Verwendung gelangt das Sulfat des Antibiotikums (HEPDING und WAHLIG, 1966).

Zentraler Baustein des Moleküls ist das Aminocyclitol Desoxystreptamin, das mit zwei Aminozuckern glykosidisch verknüpft ist (FORTH et al., 1983).

Der basische Antibiotikum-Komplex besteht vorwiegend aus drei praktisch wirkungsgleichen Komponenten (BLOBEL, 1979). Er enthält im wesentlichen

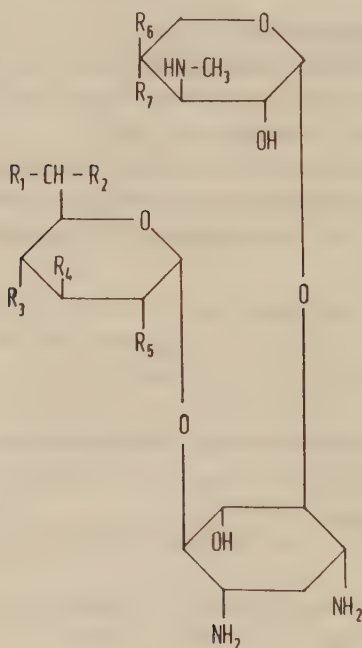
die einander sehr ähnlichen Gentamicinfraktionen C_1 (zu 29,5%), C_{12} (zu 27,8%) und C_2 (zu 42,7%). Sie unterscheiden sich durch verschiedene Gruppen des Aminoglykosids, besitzen aber gleiche Wirksamkeit (WALTER und HEILMEYER, 1975).

Gentamicin ist in Wasser gut löslich, ebenso in Formamid, Äthylenglykol, 0,1n-NaOH und 0,1n-HCl.

Wässrige Lösungen sind sehr stabil und können ohne Aktivitätsverlust auf 100°C erhitzt werden.

In organischen Lösungsmitteln wie Alkohol, Benzol Aceton und halogenierten Kohlenwasserstoffen geht Gentamicin wenig bis gar nicht in Lösung (WALTER und HEILMEYER, 1975; BLOBEL, 1979).

Strukturformel:



(WALTER und HEILMEYER, 1975)

2.4.3.3. Antibakterielle Wirksamkeit

Gentamicin besitzt ein breites antibiotisches Spektrum. Es erreicht viele grampositive und gramnegative Erreger. Im gramnegativen Bereich ist Gentamicin besonders aktiv gegen *Pseudomonas aeruginosa* sowie coliforme Bakterien wie *E.coli*, Klebsiellen oder Enterobacterarten. Das Antibiotikum erfaßt auch Salmonellen, Shigellen und Proteusarten. Auch gegen Staphylokokken, Coryne- und Mykobakterien läßt sich eine gute Hemmwirkung erzielen (HEPDING und WAHLIG, 1966). Weniger gut ist die Wirkung bei gramnegativen Kokken, *Haemophilus influenzae* und Listerien. Gar nicht oder nur unzureichend lassen sich Streptokokken incl. Enterokokken und Pneumokokken beeinflussen (FORTH et al., 1983).

In vitro liegt das Wirkungsmaximum bei pH 7,5-8,0 (BLOBEL, 1979).

Tab. 10: Antibakterielles Wirkungsspektrum von Gentamicin (MHK)

Bakterienarten	MHK (µg/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,1 - 2,0 (-16,0)
<i>E.coli</i>	0,4 - 2,0 - 6,0
Salmonella -Arten	0,5 - 6,0
Enterobacter aerogenes	0,8 - 4,0
Proteus - Arten	0,4 - 6,0 (-12,0)
<i>Pasteurella multocida</i>	0,8 - 3,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,15 - 4,0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0,15 - 6,0
<i>Streptococcus faecalis</i>	5,0 - 50,0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0 - 6,0
<i>Bacillus anthracis</i>	0,1 - 5,0
Clostridien - Arten	0,5 - 3,0 - 15,0
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,08 - 5,0

(nach BLOBEL, 1979)

WAHLIG prüfte die antibakterielle Wirkung von Gentamicin an 171 Bakterienstämmen der verschiedenen Keimarten. 84% aller geprüften Stämme wurden durch Gentamicinkonzentrationen $< 5 \mu\text{g/ml}$ gehemmt. Von Konzentrationen bis zu $10 \mu\text{g/ml}$ wurden sogar 96% aller Keime erfaßt (HEPDING und WAHLIG, 1966).

BURROWS (1979) fand in seinen Untersuchungen Gentamicin als sehr effektiv gegen *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*, *E.coli* und *Staphylococcus*. Gegen Anaerobier und Streptokokken war das Medikament uneffektiv.

WALTER und HEILMEYER (1975) konnten bei gramnegativen Keimen wie *Enterobacter*, *E.coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiellen*, *Proteusarten*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonellen* und *Shigellen* in vitro bei Gentamicinkonzentrationen $< 4 \mu\text{g/ml}$ zu 80 bis $> 90\%$ (z.T. bis 100%) eine Hemmung erzielen. Von den grampositiven Keimen waren *Staphylokokken* zu $> 90\%$ sensibel.

ZIV (1980) stellte in seinen Untersuchungen bei Konzentrationen von $4,0 \mu\text{g/ml}$ eine Hemmung der meisten Organismen fest. $0,5 \mu\text{l/ml}$ hemmen bereits mehr als 95% der *E.coli*-Keime, die von Kälbern bzw. Kühen mit akuter Mastitis isoliert worden waren.

DUNHAM (1967) untersuchte die Wirksamkeit des Gentamicins in vitro gegenüber Mastitisserregern mittels Resistenzbestimmung mit Teststäbchen: dabei kamen 137 Bakterienstämme zur Untersuchung (18 hämolysierende *Staphylokokken*, 48 beta-hämolysierende *Streptokokken*, 51 *Mikrokokken*, 10 coliforme Keime und 10 nicht näher differenzierte grampositive Stäbchen). Nur 4 dieser 137 Stämme waren gentamicinresistent. Alle *Mikrokokkenstämme* waren ohne Ausnahme sehr empfindlich gegenüber Gentamicin.

Die Hemmwirkung bei den *Staphylokokken* war gut, bei den coliformen Keimen gut bis sehr gut. Die beta-hämolysierenden *Streptokokken* waren nur wenig empfindlich gegenüber Gentamicin. AUWÄRTER und NAUMANN (1968) untersuchten 240 grampositive und gramnegative Bakterienstämme auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Gentamicin. Darunter befanden sich *Pseudomonas* (60 Stämme), *E.coli* und coliforme Keime (50 Stämme), *Klebsiella* (10 Stämme), *Proteus* (20 Stämme), *Staphylokokken* (20 Stämme) und hämolysierende *Streptokokken* (10 Stämme). Diese Bakterienstämme waren schon durch niedrige Gentamicinkonzentrationen, die mit wenigen Ausnahmen unter $1,5 \mu\text{g/ml}$ lagen, bakteriostatisch zu beeinflussen.

2.4.3.4. Wirkungsweise

Aminoglykoside wirken in höherer Konzentration bakterizid, in erster Linie auf proliferierende Keime, weniger gut auf ruhende Keime. Sie greifen in die Proteinsynthese ein. Ihr Angriffspunkt ist dabei die Translationsphase im Mikroorganismus.

Gentamicin dringt in empfängliche Bakterien ein und bindet sich an die 30 S - Ribosomenuntereinheit. Diese Verbindung verursacht eine Fehldeutung des genetischen Codes und den Einbau von falschen Aminosäuren in das Bakterienprotein. Die fehlerhafte Proteinsynthese verursacht letztlich den Tod der Bakterienzelle, ebenso die Erschöpfung des ribosomalen Depots und die damit gegebene Behinderung der Synthese bakteriellen Zellproteins (CLARK, 1977; CONZELMAN, 1980).

Für die Induktion der ribosomalen Fehlinformation ("misreadingeffect") und/oder der Hemmung von Peptidverknüpfungen ist das Desoxystreptamin von zentraler Bedeutung (WALTER und HEILMEYER, 1975).

Die Kinetik der antibakteriellen Wirkung ist konzentrationsabhängig. Der bakterizid-degenerative Wirkungstyp des Gentamicins läßt sich mit Konzentrationen von (0,5-) 1 - 2 (-5) µg/ml bei grampositiven und gramnegativen Keimen erzielen (diese Wirkstoffkonzentrationen bestehen nach üblicher Dosis im Serum und anderen Körperflüssigkeiten).

Die bakteriostatische Hemmkonzentration ist etwa 2-10fach niedriger als die bakterizide Konzentration (WALTER und HEILMEYER, 1975).

2.4.3.5. Pharmakokinetik

2.4.3.5.1. Resorption

Gentamicin wird oral nur in Spuren resorbiert. FORTH et al. (1983) sprechen von einer oralen Resorption von lediglich 1%. BLOBEL kann nach oraler Gabe nur noch 0,2% des Antibiotikums im Harn nachweisen (BLOBEL, 1979). Für eine systemische Wirkung ist deshalb immer die parenterale Applikation notwendig. Nach parenteraler Gabe erfolgt bei allen Haustieren eine rasche Resorption und Verteilung im Organismus.

- Nach i.m. Injektion wird bei Rind und Schwein schon binnen 30-60 Minuten der maximale Serumspiegel erreicht. So kann man mit einer Dosis von 1,5 mg/kg Gentamicin bei Rindern 8-10 Stunden lang therapeutisch wirksame Serumkonzentrationen herstellen.
- Nach i.v. Injektion ist schon nach 20 Minuten das Verteilungsgleichgewicht erreicht (BLOBEL, 1979; WALTER und HEILMEYER, 1975).

Die Plasma-Eiweißbindung von Gentamicin ist nur gering. Seine Plasma-Halbwertszeit liegt bei 2 Stunden (FORTH et al., 1983).

ZIV und Mitarbeiter (1982) untersuchten die Pharmakokinetik von Gentamicin bei 4-5 Wochen alten Kälbern. Ihnen wurden 3 mg/kg i.v. verabreicht. Die Serumuntersuchungen ergaben folgendes Konzentrationsprofil (s. Abb. 5):

Gentamicin-
Konz. (mg)
im Serum
(log)

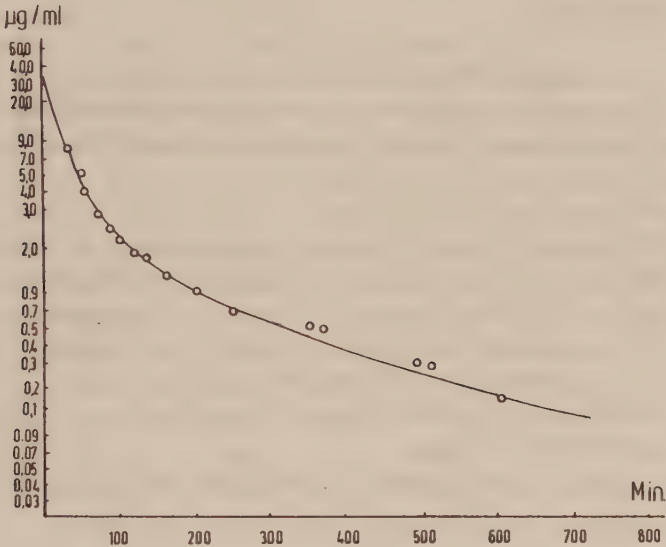


Abb.5: Gentamicin-Serum-Konzentration beim Kalb nach einmaliger i.v.Injektion von 3 mg/kg (ZIV et al., 1982)

2.4.3.5.2. Verteilung

Die Eiweißbindung von Gentamicin ist niedrig. Im menschlichen Serum liegt sie bei 0-30%.

Nach parenteraler Gabe verteilt sich Gentamicin im extrazellulären Raum, wobei sich in etwa dieselben Konzentrationen einstellen wie im Serum.

Der Übertritt von Gentamicin in Liquor und Milch ist normalerweise gering, nur bei Entzündungen etwas erhöht (BLOBEL, 1979).

Das Verteilungsvolumen von Gentamicin entspricht der Größe des extrazellulären Raums.

Gentamicin verteilt sich zwar im gesamten Organismus; die Gewebespiegel liegen jedoch in der Regel unterhalb der Serumwerte (besonders in ZNS, Auge, Fettgewebe).

So finden sich

- im Liquor nur 10%
- in Lunge und Bronchialsekret sowie serösen Körperhöhlen 25-50%
- und im Innenohr etwa 20% der Gentamicinkonzentration im Serum (FORTH et al., 1983).

Die Konzentration von freiem und an Gewebe gebundenem Gentamicin in Organen und Körperflüssigkeiten eines Kalbes nach einmaliger i.v. Injektion des Antibiotikums zeigt Tabelle 11. Den Angaben in Tabelle 11 ist zu entnehmen, daß Gentamicin in den Nieren am höchsten konzentriert ist, vorwiegend in freier Form, und im Urin.

Dagegen liegen die Werte in Leber, Lunge, Herz und Skelettmuskulatur beträchtlich niedriger.

Im Gehirn war kein Gentamicin nachweisbar (ZIV et al., 1982).

Tab. 11: Konzentration von freiem und an Gewebe gebundenem Gentamicin in Organen und Körperflüssigkeiten eines Kalbes nach einmaliger i.v. Injektion von Gentamicin 3,0 mg/kg (ZIV et al., 1982)

Organ	Stunden nach Injektion -> (Konz. in µg/ml)							
	frei	4 geb.	frei	8 geb.	frei	12 geb.	frei	24 geb.
Nieren	320,0	148,0	242,0	100,0	194,0	78,0	92,0	36,0
Leber	1,2	0,45	0,85	0,40	0,20	-	-	-
Lunge	0,85	-	0,60	-	-	-	-	-
Herz	0,85	-	0,65	-	0,20	-	-	-
Skelett-	0,85	-	0,40	-	0,20	-	-	-
muskel								
Gehirn	-	-	-	-	-	-	-	-
Galle	22,0	-	12,5	-	8,2	-	-	-
Urin	318,0	-	287,8	-	153,0	-	108,2	-
Serum	0,62	0,1	0,40	-	0,18	-	-	-

Nach 24 Stunden war noch in Nieren und Urin Gentamicin nachweisbar.

2.4.3.5.3. Ausscheidung

Die Ausscheidung von Gentamicin erfolgt fast ausschließlich durch glomeruläre Filtration in der Niere, in mikrobiologisch aktiver Form. Die tubuläre Rückresorption spielt nur eine geringe Rolle.

Binnen 24 Stunden sind 80-85% einer verabreichten Dosis mit dem Harn ausgeschieden, ca. 70% schon während der ersten 6 Stunden. Die Ausscheidung über die Galle ist minimal (NEDDEN et al., 1972; BLOBEL, 1979).

Die Gentamicinkonzentration im Harn erreicht 3-6 Stunden p.appl. ihren Spitzenwert (WALTER und HEILMEYER, 1975).

ZIV et al. (1982) fanden nach einer i.v. Injektion von Gentamicin ca.

12 Stunden p.appl. 70% über die Nieren ausgeschieden, nach 48 Stunden ca. 90% (s.Abb. 6).

% der Dosis
im Urin

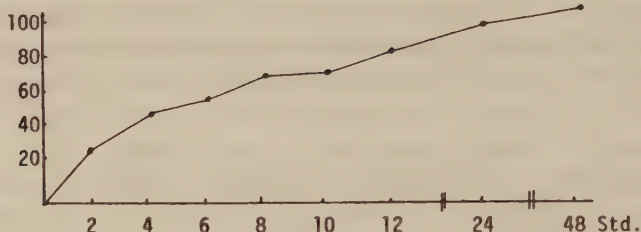


Abb.6: Gentamicin-Ausscheidung im Urin nach einer einmaligen intravenösen Injektion (ZIV et al., 1982)

2.4.3.6. Nebenwirkungen

Die akute Toxizität von Gentamicin (LD_{50}) bei der Maus beträgt i.v. 77 (53-100) mg/kg s.c. 490 (460-520) mg/kg (HEPDING, 1966; WALTER und HEILMEYER, 1975).

Nach toxischen Dosierungen kommt es bei Haustieren zu Blutdruckabfall, Nierentubulusnekrosen, Erhöhung des Serumharnstoffs, Gehörschäden (Vestibularisschäden <2% beim Menschen) (NEDDEN et al., 1972; BLOBEL, 1979).

Die ototoxischen Schädigungen machen sich klinisch als Schwindel, Ohrensausen, Nystagmus, Kopfschmerzen und Übelkeit bemerkbar (insgesamt bei ca. 2-2,5% der Behandlungsfälle).

Nephrotoxische Reaktionen lassen sich bei etwa 1-3% der Behandlungsfälle nachweisen, besonders bei schon bestehenden Nierenschäden. In solchen Fällen bemerkt man meist einen Anstieg der Rest-N-Werte im Serum. Proteinurie und pathologischer Harnsedimentbefund werden selten beschrieben (WALTER und HEILMEYER, 1975).

2.4.3.7. Resistenz

Als Resistenzmechanismus kommt in erster Linie die enzymatische Inaktivierung der Aminoglykoside in Frage. Sie erfolgt durch

- Adenylierung und Phosphorylierung von OH-Gruppen oder
- Acetylierung von Aminogruppen.

Die geringsten Resistenzen treten bei Staphylokokken (<10%), Pseudomonas (ca.10%) und einigen Enterobakterien (E.coli und alle Proteusarten (<10%) auf.

Ungünstiger ist die Lage bei Klebsiellen (ca. 30%), Enterobacter (<20%) und Serratia (bis zu 60%) (FORTH et al., 1983).

Eine primäre Resistenz gegenüber Gentamicin findet sich noch selten in vivo.

Nach 10-15 Kulturpassagen lassen sich Resistenzwerte mit dem 40- bis 80-fachen des Ausgangswertes erreichen (WALTER und HEILMEYER, 1975). WALTER und HEILMEYER (1975) bewiesen bei Erregern, die in vitro Gentamicin-resistent gezüchtet wurden, eine Kreuzresistenz zu Neomycin, Kanamycin und Streptomycin. Dies ist wahrscheinlich durch einen gemeinsamen Desoxystreptamin-Kern bedingt. Andererseits sind Streptomycin- und Kanamycin-resistente Keime manchmal Gentamicin-sensibel.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material

320 Isolate von euterpathogenen Streptokokken standen zur Untersuchung zur Verfügung. Der Zeitraum der Untersuchungen lag zwischen März und September 1986.

Die Isolate stammten aus dem Untersuchungsgut des Tiergesundheitsdienst Bayern e.V. in Grub (Leitung: Professor Dr. W. Gedek).

Die Milchproben waren möglichst steril in Anlehnung an die von DIRNHOFER (1950) empfohlene Methode entnommen worden. Die Proben wurden sodann auf Blutagar ausgestrichen und bei Kühlschranktemperatur (+4°C) aufbewahrt.

Die beimpften Platten wurden zur weiteren Untersuchung an der Gynäkologischen Tierklinik in München wöchentlich abgeholt. Es wurden Resistenzbestimmungen im Agar-Diffusionsverfahren mit Testblättchen durchgeführt und die minimale Hemmkonzentration von Cephacetril, BAY VP 2674 und Gentamicin bei euterpathogenen äskulinnegativen und äskulinpositiven Streptokokken ermittelt. Bei den Versuchsdurchführungen zur MHK-Bestimmung wurde auch ein Stamm *Staphylococcus aureus* als Teststamm mitgeführt.

3.2. Methodik

3.2.1. Bakteriologische Untersuchung

3.2.1.1. Blutagar

Als Nährboden diente Blutagar. Blutagar bietet sich an, da fast alle euterpathogenen Erreger auf der Blutagar-Platte wachsen.

Zusammensetzung des Blutagars (g/Liter).

33 Tryptose-Blood-Agar-Base (DIFCO)

1 Äskulin

1000 ml Aqua dest.

dazu 7% gewaschene Rindererythrozyten

Eine Öse der zu untersuchenden Kultur wurde im fortlaufenden Ausstrichverfahren auf ein Viertel einer Blutagarplatte ausgestrichen. So konnten 4 Proben pro Platte untersucht werden. Nach einer Bebrütungszeit von 24 Stunden bei 37°C wurde das Wachstum anhand der Kulturmorphologie beurteilt.

3.2.1.2. Edwards Medium

Die erhaltenen Stämme wurden ferner zum Zwecke der Reinzüchtung noch 1-2 mal auf Edwards Agar überimpft.

Das Edwards Medium hat sich besonders in der Mastitisdiagnostik als Selektivnährboden für Streptokokken bewährt.

Es enthält Kristallviolett und Thalliumsulfat. Dadurch wird das Wachstum saprophytärer Keime und besonders auch der meisten übrigen Mastitisreger gehemmt.

Äskulin, das dem Medium beigegeben ist, dient der Differenzierung von *Sc.agalactiae* von anderen Streptokokken.

Zusammensetzung des Edwards Mediums (g/Liter):

33 Tryptose-Blood-Agar-Base
1 Äskulin
33.3 ml 1%iges Thalliumsulfat
1,3 ml 0,5%iges Kristallviolett
1000 ml Aqua dest.
dazu 7% gewaschene Rindererythrozyten

oder: 41g Edwards Medium (modified, OXOID, Art.Nr. CM 27)
1000 ml Aqua dest.
dazu 7% gewaschene Rindererythrozyten

3.2.1.3. Differenzierung der Streptokokken

Zur weiteren Differenzierung wurden die beimpften Blutplatten auf ihr Verhalten gegenüber Äskulin untersucht.

Äskulin ist ein Glykosid aus der Rinde der Roßkastanie. Es zeigt im filtertierten UV-Licht blaue Fluoreszenz. Äskulin wird von Streptokokken der serologischen Gruppen D,E,N,P,Q,R,S,T,U hydrolytisch in Traubenzucker und Äskulitin gespalten. Im Falle einer positiven Reaktion (d.h. Äskulinspaltung) beobachtet man statt einer blauen Fluoreszenz eine bläulich-schwarze Färbung.

Dieses Verfahren dient der Vordifferenzierung der zu untersuchenden Streptokokken-Stämme in äskulinpositive und äskulinnegative.

Die äskulinnegativen Stämme, die in den Untersuchungen verwendet wurden, waren zuvor schon im Rahmen einer anderen Untersuchung auf Zugehörigkeit zur Lancefield-Gruppe B (*Sc.agalactiae*) mit den üblichen Nachweisverfahren untersucht worden (CAMP-Test, Na-Hippurat-Test, serologische Differenzierung).

Daraus ergibt sich folgende Gruppen-Unterteilung der in dieser Arbeit untersuchten Streptokokken:

- a) B-Streptokokken
- b) Äskulinnegative Streptokokken, außer B-Streptokokken
- c) Äskulinpositive Streptokokken

Eine weitere Differenzierung wurde nicht vorgenommen.

3.2.2. Resistenzbestimmung

Die isolierten Keime wurden nunmehr einer Resistenzbestimmung unterzogen. Im Agar-Diffusionsverfahren, in Form der Blättchenmethode wurde die Sensibilität der Keime gegenüber Cephacetril, BAY VP 2674 und Gentamicin nach den Richtlinien des Normenausschusses Medizin im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. (DIN-Vorschrift 58940 Teil 2) geprüft.

Von der Blutagar-Platte wurden mit einer abgeflamten Öse mehrere gleiche Kolonien berührt.

Das gewonnene Material wurde in einem Reagenzglas mit 3-5 ml Nährbouillon (Standard-II-Bouillon, Merck) suspendiert. Nach guter Durchmischung wurde die Keimsuspension mit einem sterilen Wattetupfer auf einer ASS-Agar-Platte (Antibiotika-Sulfonamid-Sensibilitäts-Agar, Merck, Art. Nr. 5392) ausgestrichen. Die Platte wurde insgesamt 4 mal in fortlaufender Ausstrichmethode ausgestrichen, wobei nach jedem Ausstrich eine Drehung der Platte um 90° erfolgte.

Anschließend wurde die Platte für 24 Stunden bei 37°C in den Brutschrank verbracht.

Von einem Wirkstoffträger (Testblättchen) diffundiert das Chemotherapeutikum in den Nährboden. Die Konzentration des diffundierenden Chemotherapeutikums nimmt mit zunehmender Entfernung vom Testblättchen ab. Je nach Empfindlichkeit des aufgeimpften Keimes gegen das Chemotherapeutikum wird dessen Wachstum in einem bestimmten Abstand vom Testblättchen gehemmt.

Dabei entstehen wachstumsfreie Zonen, sogenannte Hemmhöfe. Der Durchmesser der Hemmhöfe wird gemessen und daran die in vitro-Wirksamkeit der einzelnen Chemotherapeutika beurteilt.

Tabelle 12 zeigt die getesteten Chemotherapeutika, ihre Dosis und die Beurteilungskriterien.

Tab: 12: Getestete Chemotherapeutika, Dosis und Beurteilungskriterien

Chemotherapeutikum	Dosis (μg /Blättchen).	Hemmhofdurchmesser	
		resistent/mm	empfindlich/mm
Gentamicin	10	15	18
Cephacetril	30	13	17
BAY VP 2674	5	15	15

3.2.3. Die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration im Verdünnungsverfahren

Die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration erfolgte nach einer Norm, die vom Normenausschuß Medizin im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. erarbeitet wurde (DIN 58940, Teil 6).

Diese Norm gilt nur für schnell wachsende bakterielle Krankheitserreger außer Mykobakterien.

Sie enthält Anforderungen an die Durchführung der Agar-Verdünnungsmethode, um größtmögliche Sicherheit, Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit bei Festlegungen der minimalen Hemmkonzentration zu gewährleisten.

Die Agar-Verdünnungsmethode dient der Feststellung der minimalen Hemmkonzentration auf einem Agar-Medium mit abgestuften Wirkstoffkonzentrationen.

Zunächst werden feste Nährböden aus Mueller-Hinton-Agar mit abgestuften Wirkstoffkonzentrationen hergestellt. sodann mit einer Suspension der zu untersuchenden Keime beimpft.

Die Platte wird darauf bei 37°C etwa 20 Stunden bebrütet. Die Auswertung erfolgt direkt nach Abschluß der Bebrütung.

Je nach Empfindlichkeit der Keime stellen diese ihr Wachstum bei einer bestimmten Konzentration des Chemotherapeutikums ein. Man bestimmt die Platte mit der niedrigsten Wirkstoffkonzentration, auf der ein makro-

skopisch sichtbares Wachstum nicht mehr festzustellen ist.

Die Konzentration des Chemotherapeutikums auf dieser Platte entspricht dann seiner minimalen Hemmkonzentration.

3.2.3.1. Herstellung der Stammlösungen

Die Wirkstoffe Cephacetril, BAY VP 2674 und Gentamicin werden laut DIN-Vorschrift als Reinsubstanz vom Hersteller bezogen und verwendet. Die Wirksubstanz wird entsprechend der angegebenen Aktivität des Wirkstoffs in Lösungsmittel gelöst. Als Lösungsmittel dient Aqua dest.. Um eine Stammlösung mit einer Konzentration von 2000 µg/ml zu erhalten, werden 200,6 mg Cephacetril, 223,3 mg BAY VP 2674 und 335,0 mg Gentamicin abgewogen und in 100 ml sterilem Aqua dest. gelöst.

3.2.3.2. Herstellung der Verdünnungsreihen

Die Verdünnungsreihen bestehen aus diskreten Verdünnungsschritten. Die Konzentration des Wirkstoffs ist in den nachfolgenden Stufen jeweils um die Hälfte reduziert.

64 ml der Stammlösung mit der Konzentration von 2000 µg/ml werden mit 36 ml sterilem Aqua dest. gemischt. So entsteht eine Lösung mit einer Konzentration von 1280 µg/ml.

Von dieser Lösung werden 20 ml mit 20 ml H₂O, 10 ml mit 30 ml H₂O und 10 ml mit 70 ml H₂O verdünnt.

Man erhält so 40 ml einer Verdünnung mit der Konzentration von 640 µg/ml, 40 ml mit einer Konzentration von 320 µg/ml und 80 ml mit einer Konzentration von 160 µg/ml.

Die 80 ml der Lösung mit einer Konzentration von 160 µg/ml dient nun wiederum als Ausgangslösung für die folgenden 3 Verdünnungsstufen. So erhält man insgesamt 16 Verdünnungsstufen mit Konzentrationen von 1280 µg/ml - 0,0390625 µg/ml. Die hergestellten Lösungen wurden in gut verschlossenen Glaskolben bei -12°C eingefroren und bei Bedarf im Wasserbad bei 50 ± 2°C wieder aufgetaut.

Tabelle 13 zeigt die einzelnen Schritte zur Herstellung der Stammlösungen und der Verdünnungsreihen.

Mischung		Gesamtmenge		Erreichte Konzentration µg/ml	Konzentration nach Zugabe von 9 Volumenanteilen Agar-Medium µg/ml	log ₂ x
Wirkstoff	Aqua dest.	Volumenteile				
Konzentration µg/ml	Menge Volumenteile	Volumenteile				
2000	6,4	3,6	10	1280	128	7
1280	2	2	4	640	64	6
1280	1	3	4	320	32	5
1280	1	7	8	160	16	4
160	2	2	4	80	8	3
160	1	3	4	40	4	2
USW.						

Tab.13: Anleitung zur Herstellung der Stammlösungen und der Verdünnungsreihen

3.2.3.3. Herstellung der Agar-Platten

1 Teil jeder Verdünnungsstufe wird mit jeweils 9 Teilen Agar-Medium gemischt, in Petrischalen gegossen und zum Erstarren gebracht. Für jede Testplatte sind etwa 20 ml Agar-Medium erforderlich.

Gemäß DIN-Vorschrift wurde als Agar-Medium Mueller-Hinton-Agar verwendet.

Zusammensetzung des Mueller-Hinton-Agars (g/Liter):

5,0 Fleischinfus.
17,5 Caseinhydrolysat
1,5 Stärke
12,5 Agar-Agar
dazu 7% gewaschene Rinder-Erythrozyten

36,5 g der Mueller-Hinton-Trockenmasse wurden in 1000 ml Aqua dest. gelöst und schonend bei 115°C autoklaviert. Die Mischung wurde in größeren Mengen hergestellt und bei Kühlschranktemperatur (+4°C) aufbewahrt.

Der Mueller-Hinton-Agar wurde später im Dampftopf bei 100°C erwärmt. Bis zu seiner völligen Auflösung wurde er im Wasserbad bei 50°C flüssig gehalten.

Dann erfolgte die Beigabe von 7% gewaschenen Rinder-Erythrozyten. Das Blut wurde von gesunden Rindern möglichst steril entnommen, in Zentrifugenbehälter gefüllt und bei 3.000 U/min. 20 Minuten lang zentrifugiert.

Der Überstand wurde mit Pasteurpipetten abgesaugt. Der Behälter mit den Erythrozyten wurde wieder mit 0,9%igem NaCl aufgefüllt und erneut zentrifugiert.

Dieser Vorgang des Erythrozytenwaschens wurde insgesamt 3 mal durchgeführt. Wenn dann der Überstand klar war, wurden nach dem Absaugen die Erythrozyten mit 0,9%igem NaCl "verlängert".

Die gewaschenen Erythrozyten wurden zunächst im Kühlschrank aufbewahrt und später die jeweils benötigte Menge dem Mueller-Hinton-Agar zugegeben.

Jetzt wurde der (flüssige) Mueller-Hinton-Agar und die Wirkstoffverdünnung jeder Verdünnungsstufe im Verhältnis 1:9 zusammengegeben und vermischt. Dies alles geschah im Wasserbad, damit es zu keiner vorzeitigen Erstarrung des Agars kam.

Danach wurde das Gemisch in Platten ausgegossen. Vor dem Erstarren des Agars wurden die ausgegossenen Platten mit dem Bunsenbrenner abgeflammt, damit entstandene Luftblasen zerstört wurden und die Agaroberfläche möglichst steril blieb. Da das Mischungsverhältnis 1:9 betrug, war die Wirkstoffkonzentration in den fertigen Agarplatten um 1/10 kleiner als in den jeweiligen Verdünnungsstufen (s. Tab.13)

Die fertigen Agarplatten hatten somit folgende Wirkstoffkonzentrationen:

1) 128 µg/ml	5) 8 µg/ml	9) 0,5 µg/ml	13) 0,03125 µg/ml
2) 64 µg/ml	6) 4 µg/ml	10) 0,25 µg/ml	14) 0,01562 µg/ml
3) 32 µg/ml	7) 2 µg/ml	11) 0,125 µg/ml	15) 0,00781 µg/ml
4) 16 µg/ml	8) 1 µg/ml	12) 0,0625 µg/ml	16) 0,00390 µg/ml

3.2.3.4. Beimpfen der Agar-Platten

Die Testplatten wurden mit einer Bakteriensuspension beimpft, die 10^7 vermehrungsfähige Keime enthält.

Die Beimpfung erfolgte so, daß auf einer Fläche von $0,5 \text{ cm}^2$ etwa 10^4 Keime ausgestrichen wurden. Auf einer Platte konnten mehrere Stämme gleichzeitig untersucht werden. Es mußte dabei mindestens 1 Keim mit bekannter Empfindlichkeit als Kontrolle enthalten sein.

3.2.3.4.1. Einstellen der Keimzahl

Um eine Bakteriensuspension mit 10^7 vermehrungsfähigen Keimen zu erhalten, wurden die auf Edwards-Platten geimpften Kulturen nach einer Bebrütungszeit von 20 Stunden bei 37°C mit etwa 4 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Dabei war für eine gute Suspension zu sorgen.

Dafür wurden die Kolonien vorsichtig mit einem abgeflamten Glasspatel

aufgerührt. Ca. 3 ml der hergestellten Keimsuspension wurden in ein Reagenzglas überpipettiert.

Von dieser Keimsuspension mußte nun eine Zehnerverdünnung hergestellt werden. Dazu waren je 9 Reagenzgläser nötig, von denen jedes mit 0,9 ml physiologischer Kochsalzlösung gefüllt war. Von der Keimsuspension ausgehend wurde jeweils 0,1 ml in das folgende Reagenzglas pipettiert. 0,1 ml aus dem letzten Reagenzglas sind zu verwerfen.

Während dieses Vorgangs war immer für eine gründliche Durchmischung zu sorgen. Nach jedem Pipettieren mußte eine neue sterile Pipette verwendet werden.

Jetzt hatte man 9 Verdünnungen mit einer Verdünnungsstufe von 10^{-1} bis 10^{-9} hergestellt.

Aus jeder Verdünnungsstufe wurden 0,1 ml auf eine Edwardsplatte pipettiert. Die Suspension war mit einem Glasspatel auf die gesamte Fläche zu verteilen.

Nach einer Bebrütung von 20 Stunden bei 37°C erfolgte die Auswertung der Platten. Man wählt dann die Platte aus, bei der die Zahl der einzelnen Kolonien zwischen 10 und 100 betrug.

Die Zahl der festgestellten Kolonien wird mit 10 multipliziert. Man erhält so die Zahl der Keime pro ml, die sich in der zugehörigen Verdünnung befinden.

Der Multiplikationsfaktor 10 ist deshalb erforderlich, weil aus der Verdünnung nur 0,1 ml auf der Edwardsplatte ausgestrichen wurden, die Keimzahl aber pro ml und nicht pro 0,1 ml angegeben wird.

Anhand dieser Keimzahl läßt sich die Konzentration der Ausgangssuspension errechnen.

3.2.3.4.2. Ausstreichen des Inokulums

Das Inokulum wurde nach der DIN-Vorschrift 58940 so ausgestrichen, daß auf einer Fläche von etwa $0,5\text{ cm}^2$ etwa 10^4 Keime enthalten waren. Zur Beimpfung der Agar-Platten wurde eine Öse verwendet. Sie nimmt ca. 0,01 ml Flüssigkeit auf.

Aus dem Inokulum, das eine Keimkonzentration von 10^7 Keimen pro ml hat, nimmt die Öse ca. 10^5 Keime auf.

Um die nötige Keimdichte von 10^4 pro $0,5\text{ cm}^2$ zu erreichen, wurde das

Inokulum auf einer Fläche von 5 cm² ausgestrichen. Die 5 cm² wurden auf den Testplatten als Kreisfläche mit Radius von 1,27 cm aufgetragen. Dies erfolgte in der Anordnung eines Kreises im Zentrum und 5 peripherer Kreise. 6 Stämme konnten auf einer Platte ausgestrichen werden. Das Auftragen der Kreise auf die Testplatten erfolgte mit Hilfe einer Schablone auf dem Boden der Petrischale.

Auf jeder Platte wurden 5 Testkeime und der Kontrollstamm (*Staphylococcus aureus*) mit bekannter Empfindlichkeit untersucht. Nach der Beimpfung blieben die Agarplatten 20 Stunden bei 37°C im Brutschrank.

3.2.3.5. Auswertung

Nach der DIN-Vorschrift ist die minimale Hemmkonzentration die niedrigste Wirkstoffkonzentration, die auf einer Agar-Platte ein makroskopisch sichtbares Wachstum des Inokulums verhindert.

Für jeden zu untersuchenden Stamm wurde die Agar-Platte mit der niedrigsten Wirkstoffkonzentration herausgesucht, auf der kein Wachstum mehr feststellbar war.

Die minimale Hemmkonzentration für diesen Stamm entsprach dann der Wirkstoffkonzentration dieser Platte. Ein kaum sichtbares Minimalwachstum oder wenige Einzelkolonien wurden nicht bewertet.

3.2.3.6. Statistische Beurteilung

Zur statistischen Beurteilung der Ergebnisse werden der Medianwert und der Modalwert berechnet.

Der Medianwert ist derjenige Wert, bei dem höchstens die Hälfte der Beobachtungen kleiner und höchstens die Hälfte größer ist. Bei einer ungeraden Zahl von Beobachtungen ist es gerade der mittlere Wert. Bei einer geraden Anzahl nimmt man die Mitte zwischen den beiden mittelsten Werten.

$$\begin{array}{ll} n: \text{ungerade} & x_M = x\left(\frac{n+1}{2}\right) \\ n: \text{gerade} & x_M = \frac{x\left(\frac{n}{2}\right) + x\left(\frac{n+2}{2}\right)}{2} \end{array}$$

Unter dem Modalwert (= häufigster Wert) versteht man den Wert, bei dem die dichteste Konzentration von Beobachtungen vorkommt (WALTER, 1975).

4. Untersuchungsergebnisse

320 Streptokokkenstämme standen zur Verfügung. Davon gingen 11 zugrunde. Für die Auswertung verblieben 309.

183 Stämme waren äskulinpositiv (59,2%).

126 Stämme waren äskulinnegativ (40,8%).

Von den äskulinnegativen Stämmen waren 58 B-Streptokokken (46%), 68 äskulinnegative, außer B-Streptokokken (54%)

4.2. Ergebnis des Resistenztestes

Tabelle 14 zeigt das Ergebnis des Resistenztestes für alle Streptokokkenstämme

Tab. 14: Ergebnis des Resistenztestes (n = 309)

Chemotherapeutika	empfindlich(E)		mäßig empfindlich(e)		resistent(R)	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Cephacetril	302	97,8	7	2,2	-	-
BAY VP 2674	297	96,1	-	-	12	3,9
Gentamicin	190	61,5	28	9,1	91	29,4

Die Tabellen 15. 16 und 17 zeigen das Resistenzverhalten der einzelnen Streptokokkengruppen.

Tab. 15: Resistenzverhalten der äskulinpositiven Sc. (n = 183)

Chemotherapeutika	Empfindlich(E)		mäßig empfindlich(e)		resistent(R)	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Cephacetril	176	96,2	7	3,8	-	-
BAY VP 1674	171	93,4	-	-	12	6,6
Gentamicin	81	44,3	22	12,0	80	43,7

Tab. 16: Resistenzverhalten der B-Streptokokken (n = 58)

Chemotherapeutika	Empfindlich(E)		mäßig empfindlich(e)		resistent(R)	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Cephacetril	58	100	-	-	-	-
BAY VP 2674	58	100	-	-	-	-
Gentamicin	49	84,5	3	5,2	6	10,3

Tab. 17: Resistenzverhalten der äskulinnegativen Streptokokken, außer B-Streptokokken (n = 68)

Chemotherapeutika	Empfindlich(E)		mäßig empfindlich(e)		resistent(R)	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Cephacetril	68	100	-	-	-	-
BAY VP 2674	68	100	-	-	-	-
Gentamicin	60	88,2	3	4,4	5	7,4

Cephacetril hemmte das Wachstum aller 309 geprüften Streptokokkenstämme.

Gegenüber BAY VP 2674 erwiesen sich 12 Stämme als resistent. Diese waren allesamt äskulinpositiv.

91 Stämme waren resistent gegen Gentamicin, wobei 80 wiederum bei den äskulinpositiven zu finden waren, während nur 6 B-Streptokokkenstämme und 5 äskulinnegative, außer B-Streptokokken, unempfindlich gegenüber Gentamicin waren. 11 Streptokokkenstämme, die alle zu den äskulinpositiven zu rechnen sind, waren sowohl gegenüber BAY VP 2674 als auch Gentamicin unempfindlich.

Das Wachstum aller anderen Keime konnte durch mindestens 2 Chemotherapeutika gehemmt werden.

Tab. 18 zeigt die Reihenfolge der Chemotherapeutika in ihrer Wirksamkeit.

Tab. 18: Die Wirksamkeit der Chemotherapeutika

Chemotherapeutika	empfindliche Keime in %
Cephacetril	100
BAY VP 2674	96,1
Gentamicin	70,6

4.3. Ergebnis der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration

Von den 309 isolierten Streptokokkenstämmen standen alle zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration zur Verfügung. Mehrere Versuchsdurchgänge waren nötig, um alle Keime zu prüfen.

Die 309 Kulturen teilten sich in

183 (59,2%) äskulinpositive Stämme

126 (40,8%) äskulinnegative Stämme

, davon 58 (46%) B-Streptokokken und

68 (54%) äskulinnegative, außer B-Streptokokken.

Tab. 19 zeigt die Verteilung der MHK-Werte der 3 Wirkstoffe Cephacetril, BAY VP 2674 und Gentamicin bei allen Streptokokken.

Chemotherapeutika	Isolate (n)	Anzahl der Isolate mit MHK-Werten (µg/ml) von									
		0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	
Cephacetril	309	3 (1,0)	65 (21,0)	122 (39,5)	17 (5,5)	2 (0,6)	15 (4,9)	37 (12,0)	48 (15,3)	-	
BAY VP 2674	309	-	3 (1,0)	80 (25,9)	130 (42,1)	71 (23,0)	24 (7,8)	1 (0,3)	-	-	
Gentamicin	309	-	-	9 (2,9)	17 (5,5)	33 (10,7)	96 (31,1)	99 (32,0)	53 (17,2)	2 (0,6)	

(in Klammern = Prozentsatz)

Tab.19: MHK-Werte der Streptokokken

Die Variationsbreite der MHK-Werte der 3 geprüften Wirkstoffe lag zwischen

0,125 µg/ml und 16 µg/ml bei Cephacetril,
0,25 µg/ml und 8 µg/ml bei BAY VP 2674 und
0,5 µg/ml und 32 µg/ml bei Gentamicin.

Die Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung der MHK-Werte sind in Form der kumulativen Prozentsätze gehemmter Stämme in Abb. 7 dargestellt.

Additiver Prozentsatz
gehemmter Stämme

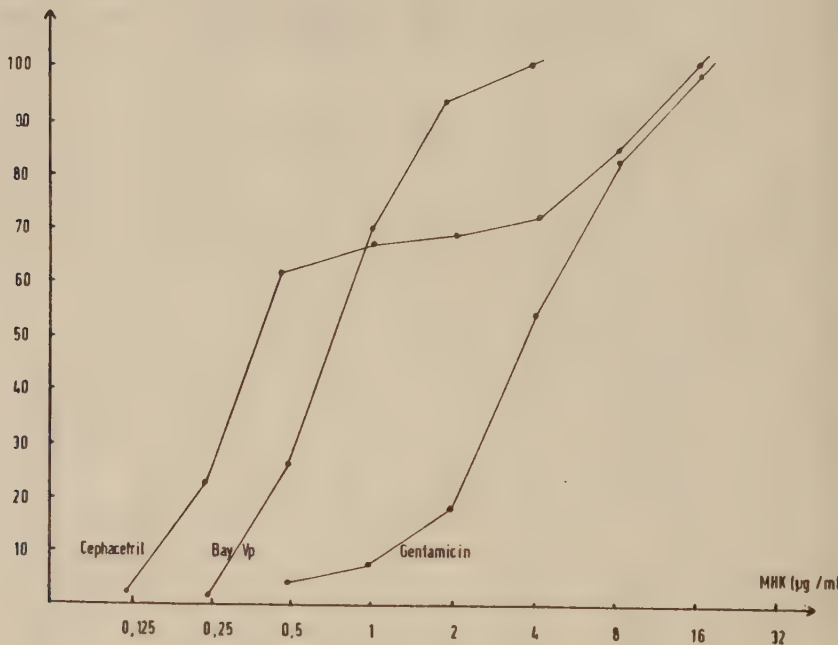


Abb.7: Kumulativer Prozentsatz der MHK-Werte von Cephacetril, BAY VP 2674 und Gentamicin gegenüber allen untersuchten Streptokokken

Tab.20 zeigt die In-vitro-Wirksamkeit der Wirkstoffe

Wirkstoff	Isolate	Variationsbreite (MHK)	Modalwert	Medianwert
Cephacetril	309	0,125 - 16	0,5	0,5
BAY VP 2674	309	0,25 - 8	1	1
Gentamicin	309	0,5 - 32	4	4

Tab.20: In-vitro-Wirksamkeit der Wirkstoffe

Tab.21 zeigt die MHK-Werte der weiter differenzierten Streptokokkengruppen.

Mastitisreger und Wirkstoff	Isolate (n)	Anzahl der Isolate mit MHK-Werte (µg/ml) von									
		0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	

Sc.agalactiae	58										
Cephacetril		2	8	36	8	-	-	1	3	-	
BAY VP 2674		-	-	7	32	15	4	-	-	-	
Gentamicin		-	-	-	-	6	16	21	15	-	

Äskulinneg.Strepto- kokken, außer B- -Streptokokken	68										
Cephacetril		-	26	40	1	-	-	1	-	-	
BAY VP 2674		-	1	42	22	2	1	-	-	-	
Gentamicin		-	-	-	2	6	20	23	15	2	

Äskulinpositive Streptokokken	183										
Cephacetril		1	31	46	8	2	15	35	45	-	
BAY VP 2674		-	2	31	76	54	19	1	-	-	
Gentamicin		-	-	9	15	21	60	55	23	-	

Tab.21: MHK-Werte der einzelnen Streptokokkengruppen

Die Weiterdifferenzierung der Streptokokken in die 3 Gruppen zeigte deutliche Unterschiede in der Empfindlichkeit zwischen den einzelnen Gruppen auf.

Für 93% der B-Streptokokken lag die MHK von Cephacetril bei $\leq 1 \mu\text{g/ml}$, für die übrigen 4 Stämme bei 8 bzw. $16 \mu\text{g/ml}$. Mit Ausnahme eines Stammes (Wachstumshemmung bei $8 \mu\text{g/ml}$) hemmte Cephacetril das Wachstum von 67 der 68 äskulinnegativen Streptokokken, außer B-Streptokokken, bei Konzentrationen zwischen $0,25 \mu\text{g/ml}$ und $1 \mu\text{g/ml}$.

Bei den äskulinpositiven Stämmen gab es zwei größere Variationsbreiten. 47% der Stämme wurden bis zur Konzentrationsstufe von $1 \mu\text{g/ml}$ gehemmt. 53% stellten ihr Wachstum erst im Bereich von 2 bis $16 \mu\text{g/ml}$ ein.

Die äskulinnegativen Streptokokken zeigten durchwegs eine hohe Empfindlichkeit gegenüber BAY VP 2674.

Die MHK-Werte lagen zwischen $0,25 \mu\text{g/ml}$ und $4 \mu\text{g/ml}$. Dabei wurden bis zur Konzentration von $1 \mu\text{g/ml}$ bereits 67% der B-Streptokokken und 95,6% der äskulinnegativen Streptokokken, außer B-Streptokokken, in ihrem Wachstum gehemmt. Von den äskulinpositiven wurden 59,6% der Keime bei einer Konzentration von $0,25 \mu\text{g/ml}$ gehemmt; bei einer Konzentration von $2 \mu\text{g/ml}$ hatten 89,1% der Stämme ihr Wachstum eingestellt.

Für einen Keim lag die MHK bei $8 \mu\text{g/ml}$.

Insgesamt lagen die minimalen Hemmkonzentrationen aller 183 äskulinpositiven Streptokokkenstämme für BAY VP 2674 in einem Bereich von $0,25 \mu\text{g/ml}$ bis $8 \mu\text{g/ml}$.

Für Gentamicin lag die Variationsbreite der MHK-Werte für B-Streptokokken zwischen $2 \mu\text{g/ml}$ und $16 \mu\text{g/ml}$.

Annähernd gleiche Werte zeigte Gentamicin bei den übrigen äskulinnegativen Streptokokken. Hier wurden 97% im Konzentrationsbereich von $1 \mu\text{g/ml}$ bis $16 \mu\text{g/ml}$ in ihrem Wachstum gehemmt und nur 2 Stämme stellten ihr Wachstum bei der Konzentration von $32 \mu\text{g/ml}$ ein.

Die minimalen Hemmkonzentrationen der 183 äskulinpositiven Streptokokkenstämme lagen im Bereich zwischen $0,5 \mu\text{g/ml}$ und $16 \mu\text{g/ml}$.

Auf jeder untersuchten Platte wurde ein Kontrollstamm mit bekannter Empfindlichkeit (*Staphylococcus aureus*) mitgeführt. Die minimalen Hemmkonzentrationen des Kontrollstammes lagen

für Cephacetril zwischen $0,5 \mu\text{g/ml}$ und $1 \mu\text{g/ml}$,

für BAY VP 2674 zwischen $0,5 \mu\text{g/ml}$ und $2 \mu\text{g/ml}$ und für Gentamicin im gleichen Bereich wie für BAY VP 2674 (s.Tab. 22).

Tab. 22: MHK-Werte des Kontrollstammes

MHK ($\mu\text{g/ml}$)	Cephacetril	BAY VP 2674	Gentamicin
0,5	27	14	10
1	35	26	31
2	-	22	21

5. Diskussion

Für die Darstellung der Resistenzsituation von euterpathogenen Keimen wird in den Untersuchungslaboratorien weltweit der Agar-Diffusionstest nach der Blättchenmethode herangezogen. Dieser Test ist vergleichsweise einfach durchzuführen und gestattet bei strenger Standardisierung auch eine Einstufung von Krankheitserregern in die drei Bewertungsstufen "empfindlich", "mäßig empfindlich" und "unempfindlich". Diese Unterteilung von Bakterien nach den drei Bewertungsstufen auf Grund der im Diffusionstest ermittelten Hemmhöfe ist nicht unproblematisch, da die Durchmesser der Hemmhöfe durch zahlreiche Faktoren beeinflusst werden, wie Erreger, Einsaatdichte, chemisch-physikalische Eigenschaften des Agars, Agardicke und Konzentration des Antibiotikums auf den Testblättchen. Aus diesen Gründen ist die Agardiffusionsmethode nur für die Routine geeignet, da sie, je nach Art der Durchführung und Standardisierung, Resultate mit großer Streuung liefert.

Einen besseren Überblick über die Resistenzlage von Krankheitserregern erbringt die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) von Chemotherapeutika. Die MHK-Bestimmung muß als Basis jeder Empfindlichkeitsprüfung gesehen werden. Sie ist inzwischen eine weitgehend standardisierte Methode geworden, womit in Zukunft eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleistet ist.

In der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe des Agar-Diffusionstests und der Agar-Verdünnungsmethode die Chemotherapeutika Cephacetril, BAY VP 2764 und Gentamicin gegenüber euterpathogenen Streptokokken geprüft.

5.1. Ergebnis der Resistenzbestimmung

Die Untersuchungen zeigen, daß bei euterpathogenen Streptokokken keinerlei Resistenzen gegenüber Cephacetril auftraten.

GEDEK (1985) untersuchte die Wirksamkeit von Cephacetril bei 210 sowohl äskulinpositiven wie äskulinnegativen Streptokokkenstämmen. Auch er konnte keinerlei Resistenzen nachweisen.

Die Untersuchungen von ZIV (1977) bestätigen eine 100%ige Empfindlichkeit von euterpathogenen Streptokokken gegenüber Cephacetril.

Nach WALTER und HEILMEYER (1975) zeigen sich 100% der Streptokokken und ca. 78% der Enterokokken empfindlich gegenüber Cephacetril.

BAY VP 2674 hat bei äskulinnegativen Streptokokken eine sehr gute in-vitro-Wirksamkeit mit einer Resistenzquote von 0%.

3,9% der äskulinpositiven Stämme konnten von BAY VP 2674 nicht in ihrem Wachstum gehemmt werden.

Resistenzen gegenüber BAY VP 2674 sind in der Literatur bis heute noch nicht beschrieben.

Nach den Untersuchungen erwiesen sich 10,3% der B-Streptokokken und 7,4% der äskulinnegativen Streptokokken, außer B-Streptokokken, gegenüber Gentamicin als resistent.

Bei einem deutlich höheren Prozentsatz (43,7%) der äskulinpositiven Streptokokken war Gentamicin unwirksam.

HENNESSEY und Mitarbeiter (1971) berichten in ihren Untersuchungen, daß von 344 aus Milch isolierten Streptokokkenstämmen nur 6% gegenüber Gentamicin resistent waren.

Den Arbeiten von MC.DONALD und MC.DONALD (1976) zufolge, erwies sich Gentamicin gegenüber euterpathogenen Streptokokken als recht ineffektiv. So fanden sie bei *Sc.agalactiae* 100%, bei *Sc.dysgalactiae* 22% und bei *Sc.uberis* 87% resistente Stämme.

5.2. Ergebnis der MHK-Bestimmung

In der Literatur sind erst wenige Veröffentlichungen über die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration von Cephacetril, BAY VP 2674 und Gentamicin gegenüber euterpathogenen Streptokokken erschienen.

Nach den eigenen Untersuchungen lag die Variationsbreite der MHK-Werte für Cephacetril zwischen 0,125 µg/ml und 16 µg/ml.

Die MHK von Cephacetril lag für 93% der B-Streptokokken bei 1 µg/ml, für die übrigen 7% der Stämme bei 8 bzw. 16 µg/ml.

Das Wachstum von 67 der 68 äskulinnegativen Streptokokken, außer B-Streptokokken, wurde von Cephacetril bei Konzentrationen zwischen 0,5 µg/ml und 1 µg/ml gehemmt. 1 Stamm stellte sein Wachstum erst bei 8 µg/ml ein.

Von den äskulinpositiven Stämmen wurden 47% bei zur Konzentrationsstufe von 1 µg/ml gehemmt, 53% erst im Bereich von 2 bis 16 µg/ml.

GEDEK (1985) bestimmte die MHK von Cephacetril bei 210 euterpathogenen Streptokokkenstämmen aus klinischen und subklinischen Mastitiden. Kein einziges Isolat war resistent, doch die Weiterdifferenzierung der Streptokokken in vier verschiedene Gruppen legte deutliche Unterschiede in der Empfindlichkeit der einzelnen Gruppen offen.

So zeigten äskulinnegative Streptokokken eine hohe Empfindlichkeit gegenüber Cephacetril mit MHK-Werten von 0,06 µg/ml bis 1 µg/ml.

Anders war die Situation bei äskulinpositiven Streptokokken: 66,7% von ihnen wurden bei Konzentrationen von 0,06 µg/ml bis 0,5 µg/ml gehemmt, 33,3% der Keime erst im Bereich von 4 µg/ml bis 16 µg/ml.

Nach der Produktinformation Vetimast liegen die MHK-Werte für Cephacetril zwischen 0,1 µg/ml und 4,0 µg/ml.

ZIV und NOUWS (1977) erhielten bei ihren Untersuchungen folgende MHK-Werte für euterpathogene Streptokokken bei Cephacetril:

Tab. 23: MHK-Werte von Cephacetril gegenüber euterpathogenen Streptokokken

Mastitiserreger Isolate (n)		MHK (µg/ml)					
		0,06	0,125	0,25	0,5	1,0	2,0
Sc.agalactiae	16	1	2	10	3	-	-
Sc.dysgalactiae	12	-	1	4	6	1	-
Sc.uberis	13	-	2	4	4	3	-

Die MHK-Werte lagen für BAY VP 2674 gegenüber den äskulinnegativen Streptokokken zwischen 0,25 µg/ml und 4 µg/ml. Bis zur Konzentration von 1 µg/ml wurden bereits 67% der B-Streptokokken und 95,6% der äskulinnegativen Streptokokken, außer B-Streptokokken, in ihrem Wachstum gehemmt.

Die minimalen Hemmkonzentrationen aller 183 äskulinpositiver Streptokokkenstämme lagen für BAY VP 2674 im Bereich von 0,25 µg/ml bis 8 µg/ml. 59,6% der Keime wurden bei Konzentrationen von 0,25 µg/ml bis 1 µg/ml gehemmt, während bei einer Konzentration von 2 µg/ml bereits 89,1% der Stämme ihr Wachstum eingestellt hatten. Für einen Keim lag der MHK bei 8 µg/ml.

SCHEER (1986) gibt für 61 geprüfte Streptokokkenstämme MHK-Werte für BAY VP 2674 an im Bereich von 0,06 µg/ml bis 4,0 µg/ml.

Die Variationsbreite der MHK-Werte lag für Gentamicin zwischen 2 µg/ml und 16 µg/ml für B-Streptokokken.

Bei den übrigen äskulinnegativen Streptokokken wurden 97% im Konzentrationsbereich von 1 µg/ml bis 16 µg/ml in ihrem Wachstum gehemmt. Nur 2 Stämme stellten ihr Wachstum bei der Konzentration von 32 µg/ml ein. Die minimalen Hemmkonzentrationen der 183 äskulinpositiven Streptokokkenstämme lagen im Bereich zwischen 0,5 µg/ml und 16 µg/ml.

Die MHK-Werte von Gentamicin gegenüber Streptokokken liegen nach BLOBEL (1979) bei etwa 4,0 µg/ml.

AUWÄRTER und NAUMANN (1968) fanden die MHK-Werte für Gentamicin gegenüber Enterokokken bei Konzentrationen von 1,56 µg/ml bis 6,25 µg/ml. Bei hämolysierenden Streptokokken der Gruppen A,B, und G fanden sie Wachstumshemmungen schon bei Konzentrationen von 1,56 µg/ml und weniger.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterscheiden sich nur unwesentlich von den Angaben in der Literatur.

Eine gewisse Diskrepanz ergibt sich jedoch bei der Resistenzsituation von Gentamicin gegenüber den untersuchten Streptokokkenstämmen.

Vom Normenausschuß Medizin im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. (1981) sind für einige wichtige Chemotherapeutika, u.a. auch für Gentamicin, sogenannte breakpoints zur Abgrenzung zwischen empfindlichen und mäßig empfindlichen Erregern sowie die Grenzwerte für Resistenz erstellt worden. Anhand dieser Empfehlung gelten Erreger als resistent gegenüber Gentamicin, wenn MHK-Werte von 4 µg/ml überschritten werden. Nach den eigenen Untersuchungen zur Resistenzsituation mit Hilfe der Agar-Diffusionsmethode erwiesen sich 29,4% aller geprüften Streptokokkenstämmen als resistent gegenüber Gentamicin. Nimmt man jedoch die ermittelten MHK-Werte und die Empfehlung des Normenausschusses Medizin als Bewertungsgrundlage, ergibt sich eine Resistenzquote von 49,8%. Diese sich widersprechenden Angaben zur Resistenzsituation sind wohl methodischen Ursprungs. Zum einen wurden zur Resistenzprüfung im Agar-Diffusionstest Testblättchen mit Gentamicinkonzentrationen von 10 µg/Blättchen verwendet, zum anderen werden subjektive Verfälschungen bei der Interpretation der Resultate verantwortlich sein.

Im Vergleich zu einer Vielzahl von Resistenzprüfungen mit dem Blättchentest liegen bislang nur relativ wenige Ergebnisse von Bestimmungen der minimalen Hemmkonzentration vor. Entsprechende Prüfungen sind in der Zukunft zu leisten, denn durch die MHK erhält man objektive und genauere Angaben über die Resistenzsituation.

Auch diese Arbeit über die in-vitro-Empfindlichkeit bzw. Resistenz von Mastitisserregern beim Rind soll Anhaltspunkte für eine gezielte und erfolgversprechende Mastitistherapie liefern. Einschränkend bleibt zu bemerken, daß die in-vitro-Empfindlichkeit eines Erregers noch keine Garantie für seine erfolgreiche Bekämpfung im lebenden Tier ist. Die

pharmakokinetischen Eigenschaften jedes einzelnen Therapeutikums wie Resorption, Verteilung und Metabolismus im Organismus sind ebenso ausschlaggebend für den Therapieerfolg.

Die in-vitro-Untersuchungen geben nur einen Hinweis dafür, wann ein bestimmtes Medikament nicht eingesetzt werden sollte, weil die in vivo erreichbaren Spiegel die Erreger wegen deren hoher MHK-Werte nicht erfassen.

6. Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden im Zeitraum von März bis September 1986 Untersuchungen über die Wirksamkeit der Chemotherapeutika Cephacetril, BAY VP 2674 und Gentamicin gegenüber euterpathogenen äskulinpositiven und äskulinnegativen Streptokokken durchgeführt. Insgesamt kamen 309 Isolate verschiedener Streptokokkengruppen aus der Milch euterkranker Rinder zur Untersuchung.

Von den 309 Stämmen gehörten 183 (59,2%) zu den äskulinpositiven und 126 (40,8%) zu den äskulinnegativen Streptokokken, die sich wiederum aus 58 B-Streptokokken und 68 äskulinnegativen Streptokokken, außer B-Streptokokken, zusammensetzten.

Mit allen 309 Keimen wurde ein Resistenztest nach dem Agar-Diffusionsverfahren mit Testblättchen durchgeführt. Das wirkungsvollste Chemotherapeutikum war Cephacetril, gegenüber dem alle Keime empfindlich waren.

BAY VP 2674 wies eine Resistenzquote von 3,9% auf, ausnahmslos gegenüber Keimen aus der Gruppe der äskulinpositiven Streptokokken.

Die geringste Wirksamkeit zeigte Gentamicin mit einer Resistenzquote von 29,4%.

Mit Hilfe des Agar-Verdünnungsverfahrens wurde die minimale Hemmkonzentration von Cephacetril, BAY VP 2674 und Gentamicin bestimmt. Die festgestellten MHK-Werte lagen bei Cephacetril für alle Streptokokkenstämme im Bereich von 0,125 µg/ml bis 16 µg/ml, bei BAY VP 2674 zwischen 0,25 µg/ml und 8 µg/ml und bei Gentamicin zwischen 0,5 µg/ml und 32 µg/ml.

Der Modalwert und Medianwert der MHK lag für Cephacetril bei 0,5 µg/ml, für BAY VP 2674 bei 1 µg/ml und Gentamicin bei 4 µg/ml.

7. Summary

Determination of the minimal inhibitory concentration of cephradil, BAY VP 2674 and gentamicin against mastitis-streptococci.

During the period of march until september 1986 the efficiency of the antibiotics cephradil, BAY Vp 2674 and gentamicin against 309 esculin-negative and esculin-positive strains of streptococci, isolated from mastitis in cows, was determined.

183 (59,2%) of these streptococcal bacteria were esculin-positive and 126 (40,8%) esculin-negative. The esculin-negative streptococci were distinguished in 58 strains of Lancefield-group B and 68 of other than B-streptococci.

All 309 bacteria were examined in an agar diffusion antibiotic susceptibility-test.

The most effective antibiotic was cephradil, which inhibited the growth of all the examined strains. The resistance quote of BAY Vp 2674 was 3,9%, which belonged all to the group of esculin-positive streptococci. The least effective substance was gentamicin with 29,4% resistant strains.

The minimal inhibitory concentration (MIC) of cephradil, BAY Vp 2674 and gentamicin was determined by the agar-dilution method.

The detected MIC's reached by cephradil from 0,125 µg/ml to 16 µg/ml, by BAY Vp 2674 from 0,25 µg/ml to 8 µg/ml and by gentamicin from 0,5 µg/ml to 32 µg/ml.

Modal value and median value of the MIC is for cephradil 0,5 µg/ml, for BAY Vp 2674 1 µg/ml and gentamicin 4 µg/ml.

8. Literaturverzeichnis

AUWÄRTER, W.u.P.NAUMANN (1968):

Untersuchungen in vitro zur antibakteriellen Aktivität von Gentamicin.
Arzneim.-Forsch. (drug res.), 18, 1115-1119

BEERWERTH, W.u. A.KÖSER (1965):

Streptokokken verschiedener serologischer Gruppen und ihr Vorkommen
außerhalb des Rindereuters.

Milchwiss., 20, 590-593

BERGMANN, A., KUNTER, E., WEHNERT, CH., HAASMAN, S., SIGGELKOW, S.,
STEINER, A., HOFFMANN, R., BACH, B., GROßMANN, P., KUTZER, H. u. G.TEMPLIN
(1980):

Vorkommen und Bedeutung von nicht zur Gruppe B gehörenden Streptokokken
als Mastitserreger in galtfreien und schwach galtverseuchten Milchvieh-
anlagen.

Mh. Vet. Med., 35, 184-190

BLOBEL, H. (1977):

Zur Bakteriologie der Rindermastitis.

Tierärztl. Umsch., 32, 55-59

BLOBEL, H. u. T.SCHLIESSER (1979):

Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. Band I.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York

BLOBEL, H. u. T.SCHLIESSER (1980):

Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. Band II.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York

BRAMLEY, A.J. (1984):

Streptococcus uberis udder infection - a major barrier to reducing
mastitis incidence.

British Vet. J., 140, 328-335

BURROWS,G.E. (1979):

Gentamicin.

J.A.V.M.A., 175, 301-302

CHRISTIE,R., ATKINS,N.E. u. E. MUNCH-PETERSEN (1944):

A note on a lytic phenomenon shown by group B streptococci.

Austral. J. Exper. Biol., 22, 197-200

CLARK.C.H. (1977):

Bacterial sensitivity to the aminoglycosides.

Modern Vet. Practice, 58, 675-678

CONZELMAN,G.M. (1980):

Pharmacotherapeutics of aminoglycosides antibiotics.

J.A.V.M.A., 176, 1078-1080

DIERNHOFER,K. (1932):

Äskulinbouillon als Hilfsmittel für die Differenzierung der Euter- und
Milchstreptokokken bei Massenuntersuchungen.

Milchwiss. Forsch., 13, 368-374

DIERNHOFER,K. (1950):

Diagnostik der Euterentzündungen.

Wiener Tierärztl. Mschr., 37, 809-866

DUNHAM,R.E. (1967):

Die Wirkung von Gentamicin im Experiment und bei der Mastitis des
Rindes.

Vet. Med. Diss., Giessen

DVORACEK,K., MODR,Z., SCHMIDT,O. u. A.NECASKOVA (1974).

Contribution to the pharmacokinetics of a new cephalosporin derivate.

Arzneim.- Forsch. (drug res.), 24, 1468-1470

ERNST,J. (1942):

The epidemiological significance of grouping and typing the hemolytic streptococci.

Kopenhagen. Ejnar Munksgaard

FACKLAM,R.R., PADULA,J.F., THACHER,L.G., WORTHAM,E.C. u. B.J. SCONYERS (1974):

Presumptive identification of group A,B, and D streptococci.

Appl. Microbiol., 27, 105-113

FERRIERI,P., WANNAMAKER,L.W. u. J. NELSON (1972):

Localization and characterisation of the hippuricase activity of group B streptococci.

Infect. Immun., 7, 747-752

FORTH,W., RUMMEL,W. u. D.HENSCHLER (1983):

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.

4. Auflage, Bibliographisches Institut

Wissenschaftsverlag Mannheim/ Wien/ Zürich

FRIEDING,H. (1972):

Untersuchungen zur Antibiotikaresistenz euterpathogener Streptokokken.

Vet. Med. Diss.,München

GEDEK,W. (1975):

Verbesserung der Therapie akuter Mastitiden durch Resistenzuntersuchungen in einer Praxis.

Prakt. Tierarzt, 56, 70-72

GEDEK,W. (1981):

Empfindlichkeitsprüfung von Mastitiserregern gegenüber Penicillinen. 1. Streptokokken.

Tierärztl. Umsch., 36, 688-691

GEDEK, W. (1985):

In-vitro-Profile der neuen Mastitistherapeutika Cephacetril, Cefoperazon und Trimethoprim.

Prakt. Tierarzt, 66, 297-300

HAHN, G. (1981):

Ergebnisse aus der Streptokokkenzentrale in Kiel von 1965-1978-Mastitis Streptokokken.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. A 249, 323-340

HAHN, G., HEESCHEN, W. u. A. TOLLE (1970):

Streptokokken. Ein Studie zur Struktur, Biochemie, Kultur und Klassifizierung.

Kieler Milchwiss. Forschungsber., 22, 333-546

HAHN, G. u. A. TOLLE (1979):

Ergebnisse aus der Streptokokkenzentrale in Kiel von 1965-1977.

Ein Überblick.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 244, 427-438

HALLMANN, L. u. F. BURKHARDT (1974):

Klinische Mikrobiologie.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart

HAUGE, ST. u. J. KOHLER-ELLINGSEN (1953):

Et selektivt agarmedium (TKT-mediet) loegnet til povissing av gruppe B-streptokokker i samlemelk (leverandør-melkeprover).

Nord. Vet. Med., 5, 539-547

HEESCHEN, W., TOLLE, A. u. H. ZEIDLER (1967):

Zur Klassifizierung der Gattung Streptococcus.

Zbl. Bakt. I. Orig., 205, 250-259

HEIDRICH, H. J. u. W. RENK (1963):

Krankheiten der Milchdrüse bei Haustieren.

Verlag Paul Parey, Hamburg, Berlin

HELLMANN,E., HENTSCHE,J. u. B.STADLER (1971):

Untersuchungen von Streptokokken aus der Milch mastitiskranker und gesunder Rinder mit CAMP-Test und mit gruppenspezifischen Seren.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 84, 121-140

HENNESSEY,P.W., KOHN,F.S., BICKFORD,S.M. u. J.I.LOY (1971):

In vitro activity of Gentamicin against bacteria isolated from domestic animals.

Vet.Med. / Small animal Clinician, 66, 1118-1122

HEPDING,L. u. H.WAHLIG (1966):

Experimentelle Untersuchungen über ein neues Antibiotikum, Gentamicin.

Arzneim.-Forsch. (drug res.), 16, 1-11

HERTEL,H. (197):

Einfluß von Zitzendesinfektion und Therapie auf die Mastitishäufigkeit beim Rind.

Schweiz. Milchwirtschaftl. Forsch., 5, 9-16

HESS,E. u. B.MEYER (1978):

Ergebnisse einer neuzeitlichen Mastitisiagnostik.

Schweiz. Arch. Tierheilk., 120, 163-170

HOFFMANN,R. (1972):

Untersuchungen über Vorkommen und Bedeutung von Streptokokken unterschiedlicher serologischer Gruppen in der Milch.

Mh. Vet. Med., 27, 472-474

HWANG,M. u. G.M.EDERER (1974):

Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B streptococci.

J. Clin. Microbiol., 1, 114-115

KIELWEIN,G., HARR,M. u. G.REISSHAUER (1962):

Ein Beitrag zu aktuellen Fragen der durch betahaemolytische Streptokokken und Galtstreptokokken verursachten Mastitiden.

Tierärztl. Umsch., 17, 415-419

KIELWEIN, G. u. M. HARR (1965):

Ein Beitrag zur Therapie der chronischen Rindermastitis.

Tierärztl. Umsch., 20, 363-366

KNOTHE, H. u. G. A. DETTE (1983):

The current state of cephalosporin antibiotics: Microbiological aspects.

Infection 11, Supp.1, 12-15

KNÜSEL, F., KONOPKA, E. A., GELZER, J. u. A. PROSSELET (1974):

Antimicrobial studies in vitro with Cephacetril, a new Cephalosporin derivate.

Arzneim.-Forsch. (drug res.), 24, 1451-1455

KRADOLFER, F., AHRENS, T., GELZER, J., VISCHER, W. u. W. ZIMMERMANN (1974):

Experimentelle Auswertung des neuen Cephalosporin-Antibiotikums Cephacetril.

Arzneim.-Forsch. (drug res.), 24, 1446-1451

KUNTER, E. (1975):

Zur Antibiotika- und Chemotherapieempfindlichkeit von Mastitiserregern.

Arch. exp. Vet. Med., 29, 1-32

KUSCHINSKY, G. u. H. LÜLLMANN (1984):

Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 10. Auflage.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York

LANCEFIELD, R. (1933):

Serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci.

J. Exp. Med., 57, 571-595

LITTLE, R. B. u. W. N. PLASTRIDGE (1946):

Bovine Mastitis.

A symposium. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York

LIVONI, P. (1953):

Continued experiments in collective action with a view to the eradication of mastitis caused by streptococci.

Intern. Vet. Congr. Stockholm, Proc. Part I, 2, 841

MAURICE, P.N., RIESS, W., WELKE, A. u. K. AMSON (1974):

Cephacetril (C 36278-Ba), ein neues Antibiotikum aus der Cephalosporinreihe.

Arzneim.-Forsch. (drug res.), 24, 1497-1501

MC DONALD, J.S. (1977):

Streptococcal and staphylococcal mastitis.

J.A.V.M.A., 170, 1157-1159

MC DONALD, J.S. u. T.J. MC DONALD (1976):

Antibiograms of streptococci isolated from bovine intramammary infections.

Am. J. Vet. Res., 37, 1185-1188

MC DONALD, T.J. u. J.S. MC DONALD (1976):

Streptococci isolated from bovine intramammary infections.

Am. J. Vet. Res., 37, 377-381

MILLER, W.T. u. J.O. HEISSMANN (1940):

Bovine mastitis caused by unusual types of streptococci.

Cornell. Vet. XXX. 317

MITSCHERLICH, W. (1965):

Der bakterielle Nachweis von *Sc. agalactiae*.

Dtsch. Tierärztl. Wschr., 72, 297

MOSER, E. (1985):

Prophylaktische und therapeutische Wirksamkeit eines Chinolonsäurederivates (BAY VP 2674) bei Absatzferkeln mit experimenteller Colidiarrhoe.

Vet. Med. Diss., Zürich

NEDDEN,R., FUCHS,T., SCHRÖDER,K. u. W.WUNDT (1972):
Die renale Ausscheidung von Gentamicin beim Menschen.
Dtsch. Med. Wschr., 97, 1496-1503

NEWBOULD,F.H.S. (1975):
The possibilities of eradicating specific infection in mastitis
control.
IDF Seminar. Reading, 85, 382-388

NORMENAUSSCHUSS Medizin im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.,
Agar-Diffusionstest DIN 58940, Teil 2 (1981)

NORMENAUSSCHUSS Medizin im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.,
Bewertungsstufen der minimalen Hemmkonzentration, Liste der MHK-Grenzwerte
DIN 58940, Teil 4 (1981)

NORMENAUSSCHUSS Medizin im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.,
Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration nach der Agar-Verdünnungsmethode
DIN 58940, Teil 6 (1979)

PAPICH, M.G. (1984):
Clinical pharmacology of cephalosporin antibiotics.
J.A.V.M.A., 184, 344-347

RADEMACHER,G. (1985):
Untersuchungen über die therapeutische Wirksamkeit von BAY VP 2674,
einem Chinoloncarbonsäurederivat, bei Kälberdiarrhoe und Enzootischer
Bronchopneumonie des Rindes.
Vet. Med. Diss., München

REMMERS,J. (1975):
Bestimmung der B-Streptokokken (Sc. agalactiae) mit Hilfe serologischer
Methoden (Präzipitation, FA-Technik) und im CAMP-Test.
Arch. Lebensmittelhyg., 26, 104-106

ROLLE, M. u. A. MAYR (1984):

Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.

5. Auflage.

Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart

ROMER, O. (1953):

On the role of Ca, G and L streptococci in bovine mastitis.

Intern. Vet. Congr. Stockholm. Proc. Part. 1., 2, 841

SCHAEREN, W., NICOLET, J. u. M. SCHÄLLIBAUM (1984):

Differenzierung und Empfindlichkeitsprüfung von äskulinspaltenden Streptokokken isoliert aus bovinen Euterinfektionen.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 97, 135-137

SCHALM, O. W., CARROL, E. J. u. N. C. JAIN (1971):

Bovine Mastitis.

Verlag Lea und Febinger, Philadelphia

SCHEER, M. (1986):

BAY VP 2674 (BAYTRIL). Antibakterielle Aktivität und Ergebnisse pharmakokinetischer Untersuchungen beim Geflügel.

Deutsche Geflügelwirtschaft und Schweineproduktion, 38, 591-593

SCHEER, M. u. R. BAUDITZ (1986):

BAYTRIL - (BAY VP 2674). Antibakterielle Aktivität sowie Serum- und Gewebespiegel beim Kalb.

World Ass. f. Buiatrics. Proc. 14th Intern. Congr., Dublin 64-65

SCHEER, M., BAUDITZ, R. u. H. LINKE (1986):

BAY VP 2674 (BAYTRIL): Antibakterielle Wirksamkeit sowie Serum- und Gewebekonzentrationen bei Schweinen.

Intern. Pig Vet. Soc., Proc. 9th Congr., Barcelona, 46-49

SCHIFFERLI, D., SCHÄLLIBAUM, M. u. J. NICOLET (1984):

Bestimmungen der Minimalhemmkonzentration bei Mastitiserregern beim Rind.

Schweiz. Arch. Tierheilk., 126, 23-34

SCHLUEP, J., ROSSELET, A. u. H. HEIM (1979):

Comparative evaluation of cephacetrile in experimentally induced bovine mastitis.

Zbl. Vet. Med. B, 26, 304-324

SCHLUEP, J. u. H. HEIM (1980):

Ausscheidung in der Milch von Cephacetril und Penicillin G nach intramammärer Applikation zu verschiedenen Zeitpunkten.

Schweiz. Arch. Tierheilk., 122, 39-43

SCHÜTZ, M. (1980):

Kontamination der Milch mit *Streptococcus agalactiae*.

Dtsch. Tierärztl. Wschr., 87, 143-144

SEELEMANN, M. (1954):

Biologie der Streptokokken.

Verlag Hans Carl, Nürnberg

SEELEMANN, M. u. G. OBIGER (1958):

Ätiologie, Prophylaxe und Therapie der Euterkrankheiten.

Kieler Milchwiss. Forschber., 10, 233-261

SINDERN, P. (1985):

Untersuchungen zur Wirksamkeit von BAY VP 2674, einem Chinolocarbonsäure-Derivat, bei der Behandlung der experimentellen *Escherichia coli*-Infektion des neugeborenen Kalbes.

Vet. Med. Diss., Hannover

STABLEFORTH, A. W. (1950):

Die Mastitiden der Rinder mit besonderer Berücksichtigung der Bekämpfung des *Str. agalactiae*.

Dtsch. Tierärztl. Wschr., 57, 253-258

THAL, E. u. G. OBIGER (1969):

Das CAMP-Phänomen des *Sc. agalactiae* und der neuen serologischen Streptokokkengruppe "U" sowie weiterer Bakterienarten.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 82, 126-130

TOLLE,A. (1972):

Streptokokken im Rahmen eines Konzeptes zur Mastitisbekämpfung.
Arch. Lebensmittelhyg., 23, 248-253

WALSER,K., FRIEDING,H. u. G.SCHMID (1973):

Untersuchungen zur Behandlung subklinischer Mastitiden des Rindes mit
Isoxazoly-Penicillinen in der Trockenperiode.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 86, 101-104

WALTER,A.M. u. L.HEILMEYER (1975):

Antibiotika-Fibel. 4. Auflage.
Georg Thiema Verlag, Stuttgart

WALTER,E. (1975):

Biomathematik für Mediziner.
B.G. Teubner Verlag, Stuttgart

WEIGT,U. u. E.GRUNERT (1964):

Durch seltene Streptokokken verursachte Mastitiden und deren klinisches
Bild.
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 71, 1-5

WENDT,K., MIELKE,H. u. H.W.FUCHS (1986):

Euterkrankheiten.
Gustav Fischer Verlag, Jens

ZIV,G. (1980):

Availability and usage of new antibacterial drugs in Europe.
J.A.V.M.A., 176, 112-1128

ZIV,G. u. J.F.M.NOUWS (1977):

Clinical pharmacology of cephacetril in ruminants.
Zbl. Vet. Med., B. 24, 798-811

ZIV,G., NOUWS,J.F.M. u. C.A.M.GINNEKEN (1982):

The pharmacokinetics and tissue levels of polymyxin B, colistin and gentamicin in calves.

J. Vet. Pharmacol. Therap., 5, 45-58

Lebenslauf:

Name: Thomas Jürgen Winter
geb.: 11. August 1956 in Hammelburg
Eltern: Dr. Karl Winter, prakt. Tierarzt
und Herta Winter, geb. Fitz

Schul- und Berufsausbildung:

1962-66 Besuch der Volksschule in Hammelburg
1966-76 Besuch des Frobenius-Gymnasiums in Hammelburg
Mai 1976 Abitur
1976-78 3 Semester Studium der Geologie/Paläontologie an der Maximilians-Universität in Würzburg
1.7.1978-
31.7.1979 Ableistung des Militärdienstes
1979-80 Studium der Tiermedizin an der Reichsuniversität in Gent (Belgien)
1981-86 Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
30.1.1986 Abschluß des Studiums mit der Tierärztlichen Prüfung
4.6.1986 Erteilung der Approbation als Tierarzt
seit März
1986 Arbeit an meiner Dissertation an der Gynäkologischen Tierklinik bei Prof. Dr. K. Walser in München
Okt.-Dez.
1986 Mitarbeit in einer Großtierpraxis in Niedersachsen
seit Jan.
1987 Anstellung als Assistent in der Großtierpraxis von Dr. G. Demleitner in Schwandorf

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. K. Walser für die Überlassung des Themas und die bereitwillige und freundliche Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit.

Ferner danke ich Herrn Prof. Dr. W. Gedek vom Tiergesundheitsdienst Bayern e.V. in Grub für die Überlassung der untersuchten Streptokokkenskulturen.

Danken möchte ich auch allen Assistenten, Angestellten und Arbeitern der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Universität München für die Unterstützung bei der Durchführung meiner Untersuchungen.

